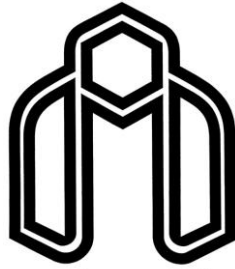


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی و حاصلخیزی خاک

اصلاح خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی توسط قارچ میکوریزا و دو گیاه بومی منطقه خرم‌آباد

نگارنده: ابراهیم حتمی

استاد راهنما

دکتر علی عباسپور

استاد مشاور

دکتر وجیهه درستکار

دی ماه ۱۳۹۶

شماره: ۱۳۹۶
تاریخ: ۱۳۹۶/۱۱/۲۵

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره (۳) صورتجلسه نهایی دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای ابراهیم حتمی با شماره دانشجویی ۹۴۰۵۶۶۴ رشته کشاورزی گرایش خاکشناسی تحت عنوان اصلاح خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی توسط میکوریزا و دو گیاه بومی منطقه خرم آباد که در تاریخ ۱۳۹۶/۱۰/۳۰ با حضور هیأت داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می‌گردد:

قبول (با درجه:): ☐ مردود ☐
نوع تحقیق: ☐ نظری ☐ عملی

عضو هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اول	دکتر علی عباسپور	دانشیار	غایب از جلسه
۲- استاد مشاور	دکتر وجیهه درستکار	استادیار	
۳- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر مودن زاده	استادیار	
۴- استاد ممتحن اول	دکتر هادی قربانی	دانشیار	
۵- استاد ممتحن دوم	دکتر یاسر صفری	استادیار	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: دکتر محمد رضا عامریان

تصريح و امضاء و مهر دانشکده:
تبصره: در صورتی که کسی مردود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می‌تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود).

این پژوهش پیشگی است به خانواده عزیز و فداکارم، که

حاشانه و صبورانه، همیار و همراه زندگی ام، هستند

و

تمامی کسانی که بخند زندگی را بر وجودم نشانند.

تشکر و قدردانی:

بر خود لازم می‌دانم از زحمات جناب آقای علی عباسپور به عنوان استاد راهنما و

سرکار خانم و جیهه دستکار به عنوان استاد مشاور که در این تحقیق مرا صمیمانه یاری

نموده و در مسیر به سرانجام رساندن این پروژه نقش قابل توجهی را ایفا کردند تشکر

نمایم.

تعهد نامه

اینجانب ابراهیم حتمی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه اصلاح خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی توسط قارچ میکوریزا و دو گیاه بومی منطقه خرم‌آباد تحت راهنمایی دکتر علی عباسپور متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

هیدروکربن‌های نفتی که در اثر شکستگی خطوط لوله‌های نفتی به داخل خاک و آب منتشر شده و باعث آلودگی محیط زیست و همچنین تهدیدی برای سلامت انسان محسوب می‌شود. بنابراین، حذف این ترکیبات از محیط زیست امری ضروری است. پایداری این آلاینده‌ها در خاک و تجمع تدریجی آن در طول زمان عملکرد طبیعی خاک را مختل می‌کند. در این تحقیق تاثیر دو گونه گیاهی (جارو علفی و علف بره) با اصلاح کننده‌های مختلف از جمله قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار، پودر یونجه و محلول غذایی بر میزان تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در خاک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین هدایت الکتریکی در تیمار پودر یونجه و قارچ میکوریزا مشاهده شد و تفاوت معنی داری بین تیمارهای دیگر وجود نداشت. مطالعات میکروسکوپی ریشه‌ها نشان می‌دهد که هر دو گیاه قادر به ایجاد ی همزیستی با قارچ میکوریزا آربوسکولار در خاک‌های آلوده بودند. درصد کلونیزاسیون میکوریزا در ریشه‌های هر دو گیاه همراه با اصلاح کننده‌های ترکیبی قارچ میکوریزا و پودر یونجه و همچنین قارچ میکوریزا و محلول غذایی به طور معنی‌داری بیشتر از کاربرد قارچ میکوریزا به تنهایی در هر دو گیاه مورد مطالعه می‌باشد. وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی و علف بره در تمام تیمارهای دارای اصلاح کننده افزایش یافت است. این افزایش در تیمارهای ترکیبی قارچ میکوریزا و محلول غذایی و همچنین قارچ میکوریزا و پودر یونجه در مقایسه با تیمار فاقد اصلاح کننده به ترتیب $262/35$ و $173/13$ درصد در گیاه جارو علفی و همچنین در گیاه علف بره به ترتیب $197/88$ و $464/87$ درصد افزایش یافته است. وزن خشک اندام هوایی گیاه جارو علفی و علف بره در تمام تیمارهای دارای اصلاح کننده افزایش یافت است. این افزایش در تیمارهای ترکیبی قارچ میکوریزا و محلول غذایی و همچنین قارچ میکوریزا و پودر یونجه در مقایسه با تیمار فاقد اصلاح کننده به ترتیب $209/94$ و $214/14$ درصد در گیاه جارو علفی و همچنین در گیاه علف بره به ترتیب $222/89$ و $539/03$ درصد افزایش یافته است. کمترین کاهش هیدروکربن‌های نفتی تحت تاثیر گیاه علف بره و نمونه فاقد اصلاح کننده و بیشترین کاهش را در اصلاح کننده قارچ میکوریزی و پودر یونجه و همچنین بیشترین حذف ترکیبات TPH تحت تاثیر گیاه جارو علفی و اصلاح کننده قارچ میوریزا

و محلول غذایی و همچنین قارچ میکوریزا و پودر یونجه کاهش ۸۳ و ۷۷ درصدی را نسبت به نمونه گیاه جارو و فاقد اصلاح کننده نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که گیاه علف بره در تیمار ترکیبی قارچ میکوریزا و پودر یونجه به طور معنی داری غلظت PAHS در خاک را نسبت به نمونه فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش داد. موثر ترین درمان در حذف PAHS ها از خاک گیاه جارو علفی بود که تحت تاثیر اصلاح کننده قارچ میکوریزا و محلول غذایی سبب کاهش ۸۳ درصدی در مقایسه با نمونه فاقد گیاه و اصلاح کننده را نشان می‌دهد.

واژه های کلیدی

گیاه پالایی، هیدروکربن های نفتی، قارچ میکوریزا آربوسکولار، جارو علفی، علف بره

لیست مقالات استخراج شده

حتمی ا.، عباسپور ع. و درستکار و. (۱۳۹۶) "گیاه پالایی خاک های آلوده به ترکیبات نفتی استان لرستان توسط گیاهان بومی" چهارمین کنفرانس بین المللی برنامه ریزی و مدیریت محیط زیست، تهران، دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران.

Hatami E. Abbaspour A. and Dorostkar V. (2018) "Phytoremediation of a petroleum polluted soil by native plant species in Lorestan Province, Iran" *Environmental Science and Pollution Research*.

فهرست

فصل اول: مقدمه

صفحه

- ۱-۱- مقدمه..... ۲
- ۲-۱- هدف و ضرورت تحقیق..... ۹

فصل دوم: مرور منابع

- ۱-۲- آلودگی..... ۱۲
- ۲-۲- آلودگی خاک..... ۱۲
- ۱-۲-۲- منابع آلاینده‌ی خاک..... ۱۲
- ۲-۲-۲- ویژگی‌های نفت..... ۱۳
- ۳-۲-۲- آلودگی نفتی خاک..... ۱۳
- ۳-۲- پاک‌سازی آلودگی‌های نفتی..... ۱۵
- ۱-۳-۲- زیست پاک‌سازی آلودگی‌های نفتی..... ۱۵
- ۱-۳-۲-۱- ریزجانداران..... ۱۵
- ۲-۳-۲-۱- گیاه‌پالایی..... ۱۸
- ۲-۳-۲- روش‌های دیگر پاک‌سازی آلودگی نفتی..... ۲۳
- ۲-۳-۲-۱- جانوران خاکزی..... ۲۳
- ۲-۳-۲-۲- کمپوست کردن..... ۲۴
- ۳-۳-۲-۲- ازونه کردن..... ۲۷
- ۴-۳-۲-۲- استخراج بخارات آلاینده..... ۲۷
- ۵-۳-۲-۲- سیستم فاز دوغابی..... ۲۸
- ۶-۳-۲-۲- احیاء..... ۲۹
- ۷-۳-۲-۲- مواد شوینده..... ۲۹
- ۸-۳-۲-۲- زمین‌پالایی..... ۳۰
- ۹-۳-۲-۲- افزایش کود و مواد اصلاح کننده..... ۳۲
- ۱۰-۳-۲-۲- روش تلفیق..... ۳۳
- ۴-۲- گیاه‌شناسی علف بره..... ۳۵
- ۵-۲- گیاه‌شناسی جارو علفی..... ۳۵

فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۱-۳- تهیه خاک..... ۳۸
- ۱-۳-۱- ویژگی‌های خاک..... ۳۸
- ۲-۳- انتخاب گیاهان برای انجام زیست پالایی..... ۴۰
- ۳-۳- آزمایش گلخانه‌ای..... ۴۰
- ۴-۳- درصد تشکیل کلونی قارچ آربوسکولار مایکورایزا در ریشه..... ۴۳
- ۵-۳- روش اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات نفتی..... ۴۳
- ۶-۳- روش اندازه‌گیری مقدار ترکیبات نفتی..... ۴۴
- ۱-۶-۳- اطلاعات دستگاه..... ۴۴

۴۴.....	۳-۶-۲- اطلاعات ستون و فاز متحرک
۴۴.....	۳-۶-۳- روش آنالیز PAH با دستگاه اچ پی ال سی (HPLC)
۴۵.....	۳-۷- طرح مورد استفاده و تجزیه آماری.....

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴۸.....	۴-۱- هدایت الکتریکی و pH در خاک‌های اصلاح شده از هیدروکربن‌های نفتی.....
۵۰.....	۴-۲- وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی و علف بره.....
۵۳.....	۴-۳- وزن خشک اندام هوایی گیاه جارو علفی و علف بره.....
۵۶.....	۴-۴- مطالعات میکروسکوپی ریشه گیاهان جارو علفی و علف بره.....
۵۹.....	۴-۵- غلظت ترکیبات نفتی کل.....
۶۵.....	۴-۶- میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای.....

فصل پنجم نتیجه گیری و پیشنهادها

۷۶.....	۵-۱- نتیجه گیری.....
۷۶.....	۵-۲- پیشنهادها.....
۷۸.....	فهرست منابع (فارسی و لاتین).....

فهرست جداول

جدول ۱-۲- ترکیبات موجود در نفت.....	۱۳
جدول ۱-۳- ویژگی‌های خاک اولیه آلوده به هیدروکربن‌های نفتی.....	۳۹
جدول ۲-۳- میزان عناصر موجود در نمونه خاک اولیه آلوده به هیدروکربن‌های نفتی.....	۳۹
جدول ۱-۴- تجزیه واریانس اثر گیاه و اصلاح کننده بر هدایت الکتریکی و pH خاک.....	۴۸
جدول ۲-۴- تجزیه واریانس وزن خشک ریشه گیاه جاروعلفی و علف‌بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفت.....	۵۱
جدول ۳-۴- تجزیه واریانس وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه جاروعلفی و علف‌بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفت.....	۵۳
جدول ۴-۴- تجزیه واریانس درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه جارو علفی و علف بره.....	۵۸
جدول ۵-۴- تجزیه واریانس میزان ترکیبات نفتی خاک های گیاه پالایی شده توسط دو گیاه جارو علفی و علف بره.....	۵۹

فهرست شکل‌ها

- شکل ۳-۱- گیاه جارو علفی پس از پنج هفته پس از کاشت تحت تیمار با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۴۱
- شکل ۳-۲- گیاه علف بره پس از پنج هفته پس از کاشت تحت تیمار با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۴۲
- شکل ۳-۳- نمونه‌های فاقد گیاه پس از پنج هفته پس از کاشت تحت تیمار با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۴۲
- شکل ۴-۱- هدایت الکتریکی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی اصلاح شده تحت تاثیر گیاه و اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۵۰
- شکل ۴-۲- pH خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی اصلاح شده تحت تاثیر گیاه و اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۵۰
- شکل ۴-۳- وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۵۲
- شکل ۴-۴- وزن خشک ریشه گیاه علف بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۵۳
- شکل ۴-۵- وزن خشک اندام هوایی گیاه جارو علفی در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۵۵
- شکل ۴-۶- وزن خشک اندام هوایی گیاه علف بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۵۶
- شکل ۴-۷- هیف قارچ آربوسکولار میکوریزا در ریشه گیاه جارو علفی..... ۵۷
- شکل ۴-۸- هیف قارچ آربوسکولار میکوریزا در ریشه گیاه علف بره..... ۵۷
- شکل ۴-۹- درصد تشکیل هیف قارچ میکوریزا در ریشه گیاه جارو علفی و علف بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی..... ۵۸
- شکل ۴-۱۰- میزان ترکیبات نفتی خاک‌های گیاه‌پالایی شده توسط دو گیاه جارو علفی و علف بره تحت تاثیر گیاه و اصلاح‌کننده‌های مختلف..... ۶۱
- شکل ۴-۱۱- مشخصات ساختاری ۱۶ ترکیب هیدروکربن‌های آروماتیک..... ۶۶
- شکل ۴-۱۲- کروماتوگرافی مربوط به نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار فاقد گیاه و اصلاح‌کننده..... ۶۷
- شکل ۴-۱۳- کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه علف بره و فاقد اصلاح‌کننده..... ۶۷
- شکل ۴-۱۴- کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح‌کننده..... ۶۷
- شکل ۴-۱۵- کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه علف بره و اصلاح‌کننده‌های قارچ میکوریزا و پودر یونجه..... ۶۸
- شکل ۴-۱۶- کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه جارو علفی و اصلاح‌کننده‌های قارچ میکوریزا و محلول غذایی..... ۶۸
- شکل ۴-۱۷- غلظت ترکیبات PAHs..... ۷۱
- شکل ۴-۱۸- غلظت ترکیبات PAHs..... ۷۲

فصل اول

مقدمہ

توسعه سریع تکنولوژی‌های جدید، همراه با یکسری مشکلات محیطی از جمله آلودگی خاک، آب و هوا است. یکی از انواع آلودگی‌های محیط زیست آلودگی خاک است که عوامل و شرایط مختلفی می‌تواند سبب آن گردد. برخلاف آب و هوا، آلودگی خاک از نظر ترکیبات شیمیایی به آسانی قابل اندازه‌گیری نبوده و با توسعه طرح‌های متعدد و آلوده شدن خاک به وسیله ترکیبات آلی، ساختار خاک برای رشد و توسعه گیاهان مسموم و خطرناک شده و تنوع زیستی آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد (نیسی و همکاران، ۲۰۱۴). آلوده شدن خاک از سویی به دلیل تماس مستقیم با افراد و از سوی دیگر به سبب ورود آلاینده‌ها به چرخه‌های غذایی موجودات زنده موجب ایجاد مشکلات بهداشتی و زیست محیطی فراوان می‌شود (گیتی پور و همکاران، ۱۳۹۵). امروزه همواره با پیشرفت شتابان صنعت و تکنولوژی، نگرانی‌های بسیاری در مورد پیامدهای مربوط تهدید زندگی بشر وجود دارد که در صورت عدم چاره‌اندیشی می‌تواند نسل حاضر و آینده را با مشکلات فراوان دست به گریبان سازد. آلودگی محیط زیست از جمله خاک از مشکلات امروز جهان در مواجهه با صنعتی شدن است (آنیکورا و همکاران، ۲۰۱۳). در دنیای صنعتی کنونی، نفت بزرگترین منبع سوختی است و با توجه به پیشرفت‌های صنعتی اخیر در مقیاس وسیع، تولید این ماده می‌تواند منجر به آلودگی خاک‌ها و منابع آب‌های زیرزمینی شود. از دلایل عمده آلودگی خاک‌ها به آلاینده‌های نفتی می‌توان به نشت ترکیبات نفتی از لوله‌های انتقال، سرریز از مخازن ذخیره، تصادف خودروهای حامل ترکیبات نفتی و یا ترکیبات مشتق شده از آن و رهاسازی ضایعات و پسماندهای پالایشگاه‌ها در محیط زیست اشاره کرد (محمدی سیچانی و همکاران، ۲۰۱۷).

نفت خام ترکیبی پیچیده مشتمل بر صدها نوع ماده مختلف مانند هیدروکربن‌ها، نیتروژن، گوگرد و وانادیوم است و قسمت هیدروکربنی آن شامل ترکیبات آروماتیک، آلیفاتیک و آسفالتن است. ترکیبات مونوآروماتیک شامل بنزین، تولوئن، اتیل بنزن و مخلوط زایلن که به عنوان شاخص آلودگی مواد نفتی مطرح می‌باشند، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای آلاینده‌های آلی ماندگار هستند که به طور

گسترده در خاک توزیع می‌شوند (ویرا و همکاران، ۲۰۰۷). این ترکیبات حاصلخیزی، نفوذپذیری، ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت اتصال ذرات خاک را کاهش می‌دهند، به طوری که ممکن است خاک غیر قابل استفاده شود (خان و ریزوی، ۲۰۱۱).

نفت سبک بیشتر از هیدروکربن‌های اشباع و آروماتیک تشکیل شده و دارای درصد کمی از رزین و آسفالتین است. لیکن، نفت سنگین که ناشی از تجزیه نفت خام در شرایط بدون اکسیژن در مخازن طبیعی است، هیدروکربن‌های اشباع و آروماتیک کمتر دارد و بیشتر از ترکیبات قطبی، رزین و آسفالتین تشکیل شده است (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۸).

ماندگاری، تجمع و حرکت آلاینده‌ها بعضی از ویژگی‌های مهم ترکیبات آلی پایدار هستند (سینگ و سینگ، ۲۰۱۳).

■ **ماندگاری:** آلاینده‌های آلی پایدار در برابر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محیط مقاوم هستند و باعث تخریب بیولوژی محیط شده و مدت زمان زیادی در محیط باقی می‌مانند.

■ **تجمع:** آلاینده‌های آلی پایدار چربی گرا هستند که به راحتی حل نمی‌شوند. در بافت بدن موجودات زنده و در محیط اطراف آن‌ها تجمع پیدا می‌کنند. از این رو، آلاینده‌های آلی پایدار برای سلامتی انسان و اکوسیستم مضر می‌باشند.

■ **موضوع حرکت آلاینده‌ها:** آلاینده‌ها آلی می‌توانند مسافت‌های طولانی جابجا شوند و محیط‌های دور از منبع خود را نیز آلوده کنند.

اصلاح خاک‌های آلوده علاوه بر ایجاد محیط زیستی سالم، برای بازگرداندن عملکرد خوب خاک لازم می‌باشد (ولچکو و همکاران، ۲۰۱۳). پاک‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از سال‌های گذشته مورد توجه قرار گرفته است. برخی از فناوری‌های پاک‌سازی خاک عبارت‌اند از: استخراج بخارات از خاک، شستشوی خاک، تثبیت و جامد سازی، روش‌های الکتروشیمیایی، پاک‌سازی زیستی و گیاه

پالایی (لرستانی و همکاران ۱۳۹۵). هر یک از روش‌ها مزایا و معایبی دارند، انتخاب هر یک از روش‌ها بستگی به نوع آلودگی داشته و ویژگی‌های منطقه آلوده دارد. معمولاً بیشتر روش‌های اصلاح خاک در مناطق کوچک مؤثر بوده و به تجهیزات ویژه، کار فشرده، هزینه و انرژی زیادی نیاز دارد (ویو. و همکاران ۲۰۰۸). تمامی این روش‌ها بر اساس ایجاد تغییرات فیزیکی، شیمیایی، الکتریکی، حرارتی و یا بیولوژیکی بر روی آلاینده‌ها است تا بتوان آن‌ها را استخراج، تثبیت و یا غیر سمی نمود. روش‌های فیزیکی و شیمیایی جهت حذف آلودگی از مناطق با وسعت نسبتاً کم کاربرد دارند و برای مساحت‌های زیاد نظیر خاک‌های آلوده به مواد صنعتی، ترکیبات نفتی، معدنکاری و نظایر آن بسیار پرهزینه هستند. علاوه بر هزینه بالا، روش‌های فیزیکی و شیمیایی شرایط طبیعی محیط زیست را نیز تغییر خواهند داد (خان، ۲۰۰۵).

یکی دیگر از روش‌های اصلاح خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های آلی روش زیستی بوده که به کمک گیاهان و ریز جانداران خاک انجام می‌شود. به عبارتی زیست پالایی کنترل، کاهش یا حذف آلودگی از محیط زیست با استفاده از فعالیت بیولوژیکی است. فرایندهای زیستی به دلیل توانایی زیاد در تجزیه ترکیبات خطرناک بیشتر از سایر روش‌ها مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های زیستی معمولاً اثرات منفی کمتر بر روی محیط داشته و به دلیل پایین بودن هزینه‌های جاری اولیه، امکان تخریب و کاهش آلاینده‌ها بدون عوارض جانبی و عدم نیاز به تجهیزات تخصصی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (بدر و همکاران، ۲۰۱۲).

در مورد مزایای روش زیستی به اختصار می‌توان گفت که این روش‌ها در مقایسه با فرایندهای فیزیکی و شیمیایی به هزینه کمتری نیاز دارد. به علاوه اینکه در مقایسه با بسیاری از تکنولوژی‌ها از پیچیدگی کمتری برخوردار است. از سویی، این تصفیه می‌تواند به صورت در محل یا با حداقل فاصله از منطقه آلوده صورت گیرد. در نتیجه ترکیبات فرار کمتری در محیط پخش می‌شوند. تخریب منطقه در این روش حداقل بوده و پایداری آلاینده‌ها و احتمال حضور طولانی مدت آن‌ها را کاهش و پذیرش عمومی بیش‌تری

دارد. در نهایت فرایند احیاء بیولوژیکی می‌تواند با سایر روش‌های تصفیه فیزیکی و شیمیایی همراه شود (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۰).

در روش زیستی، ریزجانداران از مواد هیدروکربنی به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کرده و آن‌ها را به آب و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌نمایند، حاصل این فرایند کاهش کل هیدروکربن‌های نفتی موجود در خاک است (ورناصری و همکاران، ۱۳۹۴). اصولاً ریز جانداران به کمک سه فراورده اصلی قادر به تجزیه هیدروکربن‌های نفتی می‌باشند. ریز جانداران با تولید آنزیم‌های چون مونوکسیژناز و دی اکسیژنازها قادر به تجزیه هیدروکربن‌های نفتی هستند. فراورده‌های حاصل از فعالیت این آنزیم‌ها بر روی هیدروکربن‌های نفتی، الکل‌ها هستند، که با سنجش میزان الکل‌ها می‌توان به مقدار تجزیه هیدروکربن‌های نفتی پی برد. بسیاری از ریز جانداران قادرند با استفاده از هیدروکربن‌ها به عنوان منبع کربن و انرژی، اسیدها و حلال‌های مختلف نظیر استون، بنزن و اسید اگزالواستیک تولید کنند که باعث حل شدن هیدروکربن‌های نفتی می‌شوند. از دیگر ابزارهای کارآمد ریز جانداران در استفاده از هیدروکربن‌های نفتی به عنوان سوبسترا، تولید بیوسورفکتانت جهت افزایش قابلیت دسترسی بیولوژیکی این آلودگی‌ها است (ورناصری و همکاران، ۱۳۹۴).

گیاه‌پالایی (Phytoremediation) یکی از روش‌های مورد استفاده در زیست پالایی می‌باشد، گیاه‌پالایی استفاده از گیاهان برای استخراج، جداسازی و یا رفع مسمومیت‌ها ناشی از آلودگی می‌باشد. گیاهان دارای ویژگی‌های بسیار زیاد وراثتی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی هستند که باعث شده به صورت مؤثری برای اصلاح خاک و آب مورد استفاده قرار گیرند. گیاه‌پالایی واژه جامعی است که از سال ۱۹۹۱ برای استفاده از گیاه جهت کاهش میزان، تحرک و سمیت آلاینده از خاک و آب زیرزمینی و یا دیگر محیط‌های آلوده استفاده شده است (اتم، ۲۰۱۲). زیست پالایی گیاهی یک تکنولوژی نسبتاً جدید و دوست‌دار محیط زیست بوده که توانایی آن در حذف بسیاری از آلاینده‌ها به ویژه ترکیبات نفتی به اثبات رسیده است. مواد زائدی که به طور بالقوه با استفاده از زیست پالایی گیاهی قابل مدیریت می‌باشد بسیار متنوع هستند که

از آن جمله می‌توان به فلزات سنگین، رادیونوکلیدها، نمک‌ها، مواد مغذی، مواد آلی و ... اشاره کرد. همچنین زیست پالایی گیاهی می‌تواند ابزاری قوی در مدیریت مواد زائد نفتی باشد (ویو. و همکاران، ۲۰۰۸).

در زیست پالایی گیاهی همکاری میان ریشه گیاهان و ریزجانداران خاک به تجزیه آلاینده‌های آلی پایدار کمک می‌کند. حذف ترکیبات نفتی از خاک در زیست پالایی گیاهی، غالباً به ریزجاندارانی که در ریزوسفر تحت تأثیر ریشه گیاه زندگی می‌کنند نسبت داده می‌شوند (موحان و همکاران، ۲۰۱۳). در واقع گیاهان می‌توانند با انتقال بیشتر اکسیژن به ریزوسفر از طریق کانال‌های عبوری ریشه در خاک‌های آلوده و بهبود خاکدانه‌سازی امکان تجزیه و تخریب بیشتر آلاینده‌های نفتی در خاک توسط فعالیت ریزجانداران را افزایش دهند (حال و همکاران، ۲۰۱۱).

جمعیت‌های میکروبی خاک در حضور گیاه نسبت به خاک‌های فاقد گیاه بزرگتر و فعال‌تر می‌باشند. ریزجانداران در ریزوسفر از ترشحات ریشه سود می‌برند و گیاهان نیز از سمیت زدایی متابولیکی از ترکیبات بالقوه سمی، توسط جمعیت میکروبی بهره‌مند می‌گردند. همچنین میکروب‌ها قادرند برخی مواد مغذی لازم برای رشد گیاه را به صورت محلول در آورده و در اختیار گیاه قرار دهند و نیز با تأمین ویتامین‌ها، آمینواسیدها، هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین‌ها به رشد گیاه کمک کنند (مولر و شان، ۲۰۰۶). سورگوم، لوبیا چشم بلبلی و یونجه برخی از گیاه مناسب برای رفع آلودگی‌های نفتی می‌باشند. بسیاری از گیاهان حساس به آلودگی‌های نفتی بوده که بر اساس غلظت آلودگی میزان تولید محصول کاهش می‌یابد (وزیری و همکاران، ۲۰۱۳).

گیاه‌پالایی بر اساس نوع آلاینده مورد اصلاح به شش نوع اصلی تقسیم می‌شود (وزیری و همکاران، ۲۰۱۳):

۱- **Phytoextraction**: در این روش گیاهان به استخراج آلاینده‌ها از خاک و آب می‌پردازند. استخراج آلاینده‌ها از طریق گیاهان به سرعت در حال رشد می‌باشد. به طور کلی این روند در اغلب موارد برای

استخراج فلزات سنگین استفاده می‌شود. آلاینده‌ها جذب گیاه می‌شود و در ریشه، ساقه و یا برگ تجمع می‌یابند. گیاه به جذب آلاینده‌ها تا زمانی که گیاه برداشته شود معمولاً ادامه داده و پس از برداشت یک سطح آلاینده کمتر در خاک باقی می‌ماند. به طور کلی چرخه رشد و برداشت معمولاً از طریق چندین محصول برای رسیدن به یک پاکسازی قابل توجه تکرار می‌شود پس از این فرایند خاک تمیز می‌تواند پوشش گیاهی دیگری را پشتیبانی کند.

۲- **Rhizofiltration**: این فرایند بسیار شبیه به استخراج گیاهی که در آن حذف آلاینده‌ها با به دام انداختن آنها توسط گیاه و برداشت آنها می‌باشد. اول گیاه در تماس با آلودگی قرار می‌گیرد. آلاینده‌ها از طریق سیستم ریشه جذب و در ریشه ذخیره می‌شوند گیاه همچنان به جذب آلاینده تا زمانی که برداشت شوند ادامه می‌دهد.

۳- **Phytostabilization**: برخلاف استخراج گیاهی؛ تثبیت گیاهی یک روشی است که عمدتاً در منزوی کردن آلاینده‌ها در نزدیک ریشه و نه در بافت‌های گیاهی متمرکز است که مانع حرکت آلاینده‌ها در خاک می‌شود.

۴- **Rhizosphere Bioremediation**: در این روش تجزیه آلاینده‌های آلی توسط باکتری، قارچ و ریشه صورت می‌پذیرد. در این روش با توجه به نوع آلاینده‌ها گونه مناسب انتخاب شده و پوشش گیاهی مناسب می‌تواند تعداد کل قارچ‌های مفید و باکتری‌ها را افزایش دهد.

۵- **phytotransformation**: استفاده از برخی گیاهان که توانایی تغییر و تحول ترکیبات آلی و کاهش آلودگی‌های حاصل از آنها را دارند.

۶- **Phytovolatilization**: استفاده از گیاهان برای تصفیه برخی آلودگی‌ها خاک به روش فرایند تصعید است.

اولین گام در گیاه‌پالایی پیدا کردن گونه مقاوم است که توانایی تحمل کردن یک آلاینده خاص را با توجه به حداکثر رساندن پتانسیل خود برای گیاه‌پالایی داشته باشد. پس از انتخاب یک گونه گیاهی مناسب برای رفع آلودگی باید سایر شرایط برای رشد گیاه تا حد ممکن در حالت ایده آل قرار گیرد. برای این منظور عمدتاً نیازهای تغذیه‌ای توسط کودها تأمین شده و pH در شرایط مطلوب تنظیم می‌شود (وزیری و همکاران، ۲۰۱۳). برای گیاه‌پالایی موفق گیاه و ریزجانداران برای زنده ماندن و رشد در خاک‌های آلوده به نفت خام که به طور معمول مواد مغذی کمی دارند با هم رقابت دارند. ریزجانداران و گیاه نیاز به کودهای NPK و عناصر کم مصرف برای بازده بهتر دارند (وزیری و همکاران، ۲۰۱۳). از این رو، گیاه‌پالایی به همراه کودهای زیستی می‌تواند به کمک ریزجانداران سودمندی مانند قارچ آربوسکولار میکوریزا خاک‌های آلوده را اصلاح کند (لنوور و همکاران، ۲۰۱۶).

واژه میکوریزا اولین بار از سوی فرانک در سال ۱۸۸۵ ارائه شده است میکوریزا از دو کلمه (میکو) به معنی قارچ و (ریز) به معنی ریشه تشکیل شده است. قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا نوعی همزیستی بین قارچ و ریشه گیاه میزبان می‌باشد. در این سیستم قارچ پوشش گسترده‌ای از ریشه‌های نخ مانند به هم تابیده به نام میلسیوم را در اطراف ریشه گیاه تشکیل می‌دهد در این همزیستی قارچ قند، اسید آمینه، ویتامین‌ها و برخی مواد آلی دیگر را از میزبان دریافت و در مقابل مواد معدنی به ویژه فسفات را از خاک جذب و در اختیار گیاه قرار می‌دهد (لنوور و همکاران، ۲۰۱۶). مکانیسم‌های ایجاد شده توسط همزیستی این قارچ با گیاه میزبان باعث کاهش تنش خشکی در گیاه میزبان، تغییر در منحنی مشخصه آب خاک، تنظیم اسمزی، افزایش تبادل گاز در گیاهان، افزایش راندمان مصرف آب و حفاظت در برابر خشک‌سالی و آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود. قارچ‌های میکوریزا به عنوان قارچ همزیست نقش مهمی در جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه ایفا می‌کند. این قارچ‌ها در گیاه‌پالایی به واسطه بهبود و تسریع رشد گیاه در خاک‌های آلوده و افزایش نسبت تجزیه آلاینده‌ها دارای اهمیت هستند. میکوریزا می‌تواند زیست توده گیاه را در خاک‌های آلوده به آلاینده‌ها افزایش و تحمل گیاه به آن‌ها را بهبود دهد (لنوور و همکاران، ۲۰۱۶).

۱-۲ هدف و ضرورت تحقیق

شهرستان خرم آباد یکی از منابع تأمین کننده نفت کشور است که در سال‌های اخیر منجر به آلوده شدن خاک‌های منطقه به هیدروکربن‌های نفتی شده است. شغل اکثر مردم در این منطقه کشاورزی بوده و لذا توجه به پالایش این خاک‌های آلوده ضروری به نظر می‌رسد. یافتن گیاهان اصلاح کننده بومی منطقه با خاصیت زیست پالایی و انتخاب نوع مناسب آن با توجه به زیست بوم، به عنوان راهی علمی و پابدار جهت استفاده در خاک‌های آلوده در حذف و پالایش هیدروکربن‌های نفتی از خاک می‌باشد. بنابراین این پژوهش در قدم اول با هدف انتخاب گیاه بومی مناسب برای فرآیند زیست‌پالایی در این منطقه و بررسی تأثیر همزیستی قارچ آربوسکولار میکوریزا در افزایش توان پالایش این گیاهان انجام شده است. از سوی دیگر با توجه به اثرهای مثبت بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاهان بر توان پالایش آن‌ها، اثر منفرد و تلفیقی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده با محلول غذایی و پودر یونجه مورد بررسی قرار گرفته است.

فصل دوم

مرور بر منابع

۲-۱ آلودگی

آلودگی عبارت است از پخش یا آمیختن مواد خارجی در آب، هوا و خاک به میزانی که کیفیت و خواص فیزیکی، شیمیایی یا بیولوژیکی آن‌ها را به گونه‌ای تغییر دهد که برای انسان، گیاه و یا سایر موجودات زنده زیان‌آور باشد تغییر در ویژگی‌های که منجر به تغییر در کاربرد آن شده و اجزای تشکیل دهنده محیط‌زیست، منافع و حیات موجودات زنده را به طور مستقیم یا غیر مستقیم به مخاطره اندازد (جانس و زاودزکا، ۲۰۱۷).

۲-۲ آلودگی خاک

خاک توده‌ای بی‌جان نیست بلکه در آن علاوه بر مواد معدنی، آلی، هوا و آب، موجودات زنده نیز همانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و کرم‌های خاکی وجود دارند؛ گفتنی است این موجودات در ویژگی‌های شیمیایی خاک، تغذیه گیاه و خواص فیزیکی خاک بسیار مؤثرند و در نتیجه باید میان موجودات زنده‌ی خاک و محیط‌زیست آن‌ها تعادل اکولوژیک برقرار باشد. چنانچه این تعادل محیطی با مشکل مواجه شود فعالیت موجودات زنده را دچار اختلال کرده که ادامه‌ی آن می‌تواند منجر به نابودی این موجودات و درنهایت کاهش سطح حاصلخیزی خاک شود. در سال‌های اخیر، اقدامات گوناگون برای افزایش تولید در صنعت و افزایش استفاده از کودهای شیمیایی، سموم دفع آفات نباتی، علف‌کش‌ها، فاضلاب‌های صنعتی و شهری جهت آبیاری موجب آلودگی خاک‌ها و در نتیجه از بین رفتن موجودات زنده و کاهش توان تولید آن‌ها شده است (دبیری، ۱۳۸۹).

۲-۲-۱ منابع آلاینده‌ی خاک

از منابع آلوده کننده خاک می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (لنوار و همکاران، ۲۰۱۶):

✓ فلزات سنگین (آرسنیک، کادمیم، نیکل، سرب، کروم، روی، مولیبدیم، سلنیم و ...)

✓ سموم شیمیایی و علف‌کش‌ها (حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها)

✓ کودهای شیمیایی

✓ مواد زائد و فاضلابها

✓ مواد نفتی

۲-۲-۲ ویژگی‌های نفت

نفت خام به انگلیسی Crude Oil و به روسی Naphra نامیده می‌شود که در حالت طبیعی به صورت مایع بوده و رنگ آن قهوه‌ای زرد مایل به سیاه است و در برابر نور انعکاسی، رنگ سبز بخصوصی از خود نشان می‌دهد. نفت خام به جهت وجود ترکیبات گوگرد بوی نامطلوبی دارد. بخش اعظم نفت خام از هیدرات های کربن تشکیل شده و مقدار کمی عناصر دیگر نیز به آن مخلوط می‌گردد که این عناصر و مقدار آنها در (جدول ۱-۲) نشان داده شده‌اند (لنوار و همکاران، ۲۰۱۶).

جدول ۱-۲: ترکیبات موجود در نفت

عنصر	حداقل درصد وزنی	حداکثر درصد وزنی
کربن	۸۲/۲	۸۷/۱
هیدروژن	۱۱/۸	۱۴/۷
گوگرد	۰/۱	۵/۵
اکسیژن	۰/۱	۴/۵
نیترژن	۰/۱	۱/۵

۳-۲-۲ آلودگی نفتی خاک

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) ترکیبات آب‌گریز مشتمل بر بیش از ۱۰۰ ماده شیمیایی متفاوت می‌باشند که غالباً در مواد زائد نفتی در غلظت‌های متغیر یافت می‌شوند (باغوند و همکاران

۲۰۱۴). غالب PAH به سادگی در آب حل نشده و در خاک آلوده احتمال چسبیدن و پیوند قوی PAH به ذرات جامد زیاد می‌باشد. در عین حال PAH می‌توانند از میان ذرات خاک حرکت کرده و موجب آلودگی آب زیرزمینی گردند. اغلب PAH بسیار مضرند زیرا موجب جهش ژنتیکی و باعث بروز سرطان و بیماری‌های دیگر می‌گردند (باغوند و همکاران ۲۰۱۴). آلودگی نفتی موجب حذف پوشش گیاهی و در نتیجه فرسایش خاک و تهی شدن ساختار اجتماعات گیاهی و جانوری می‌شود. بنابراین پالایش خاک در همه مناطق به ویژه مناطق دارای فعالیت‌های کشاورزی نه تنها از نظر اکولوژیک لازم است بلکه موجب حفظ محصولات کشاورزی نیز می‌گردد (نیه و همکاران، ۲۰۱۱).

در کشور نفت‌خیز همچون ایران، آلودگی خاک به ترکیبات نفتی موضوع چالش‌برانگیز است. در ایران و بسیاری از کشورهای دیگر، در معادن اکتشافاتی نفت، پالایشگاه‌ها و ... به دلایلی مانند نشت آلاینده‌های نفتی از مخازن نگهداری آن‌ها، نشت از خطوط انتقال به دلیل پوسیدگی و خرابی لوله‌های انتقال فرآورده‌های نفتی و غیره، خاک اطراف این مکان‌ها دچار آلودگی‌های نفتی می‌شوند (حیدرپور و علیایی ۲۰۱۳). به عنوان مثال بررسی پایگاه داده بین‌المللی نشت نفتی، نشان داد که حدود ۱/۱۴ میلیون متر مکعب از نفت به داخل آب‌های دریایی ایالت متحده آمریکا نشت کرده که این مسئله ناشی از ۸۲۶ حادثه در برگیرنده تانکرها، بشکه‌ها و وسایل انتقال بوده است (شاکلفورد و همکاران، ۱۹۹۸). در جنگ خلیج فارس در سال ۱۹۹۱ نیز شیش تا هشت میلیون بشکه نفت در خلیج فارس ریخته شد (والورث و رینولدز، ۱۹۹۵). در سال‌های بعد، دو سیستم تأمین کننده نیاز آب شرب شهری سانتامونیکای آمریکا به دلیل آلودگی به متیل ترسیو – بوتیل اتر غیرقابل استفاده گردیدند. در سانتامونیکای آمریکا حداقل ۵۰ درصد از کل آب شهری که از منابع زیرزمینی تأمین می‌شد برای شرب غیر قابل استفاده گردید، به طوریکه ۵/۳ میلیون دلار برای جایگزینی و تأمین آب شرب منطقه هزینه شد (آلر و همکاران، ۱۹۸۷).

در سال‌های نزدیک، بررسی انتشار این آلودگی‌ها و همچنین پاک‌سازی خاک‌های آلوده به فرآورده‌های نفتی از حساس‌ترین و حیاتی‌ترین مسائل پیچیده زیست محیطی بوده است (حیدرپور و علیایی، ۲۰۱۳).

۳-۲ پاکسازی آلودگی‌های نفتی

پاکسازی آلودگی‌های نفتی به کمک روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی انجام می‌شود (محسن-زاده، ۲۰۱۵).

۳-۲-۱ زیست پاکسازی آلودگی‌های نفتی

روش پاکسازی زیستی که به طور معمول شامل تبدیل آلاینده‌ها به مواد غیر رسمی با استفاده از فعالیت ریزجانداران است. فرایندهای امیدوار کننده‌ای برای تیمار آلودگی‌های نفتی به شمار می‌رود. پاکسازی زیستی در مقایسه با سایر روش‌های پاکسازی فیزیکی و شیمیایی دارای مزیت‌های اقتصادی و زیست محیطی فراوانی است زیرا انرژی کمی نیاز دارد، از لحاظ اقتصادی به صرفه بوده، ساختار خاک را حفظ می‌کند و کمترین اثرات سوء را بر سلامت انسان و اکوسیستم به دنبال دارد (لوکیچ و همکاران، ۲۰۱۶).

۳-۲-۱-۱ ریزجانداران

بشر از دیرباز از سیستم‌های بیولوژیکی استفاده نموده است. استفاده از مخمر به ۶۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد. از اولین فرایندهای بیولوژیکی مهندسی، استفاده از مخمر برای ورآمدن نان و تولید آبجو بوده است. مطالعات ابتدایی راجع به فعالیت ریزجانداران در سال ۱۹۵۸ توسط باکاماسکازر بر روی خاک‌های آلوده به مواد سوختی انجام شد. پس از او، پرینس در سال‌های ۱۹۶۱-۱۹۶۰ وجود باکتری‌ها را در لجن موجود در مخازن سوخت هواپیمای جت، ثابت کرد. اطلس و همکارانش (۱۹۷۴) نیز استفاده از باکتری‌ها را در تجزیه نفت و مشتقات آن مورد بررسی قرار دادند و باکتری باکتریوم اریترورنزا را به عنوان عامل مؤثر در تجزیه نفت معرفی نمودند. ریزجاندارانی که می‌توانند الکان‌ها را در مراحل مختلف به اسیدهای کربوکسیلیک تبدیل کنند و برخی از هیدروکربن‌ها را به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کنند در همه‌جا حاضر هستند (خسروی نوده و همکاران ۱۳۹۱). مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از ریزجانداران خاک در پاکسازی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی انجام شده است.

تنگ و همکاران (۲۰۱۰) مطالعه‌ی کوچکی برای آزمون توان پاک‌سازی زیستی گونه‌های *Paracoccus* sp. Strain HPD – 2 بر روی خاک‌های آلوده به PAH انجام دادند و کاهش ۳۲/۲ درصد در غلظت کل PAH خاک در طول ۲۸ روز را مشاهده کردند.

اکبری و همکاران (۱۳۸۹) عملکرد دو قارچ *Aspergillus sp.*، *Acromonium sp.* در حذف آلودگی نفتی در شرایط آزمایشگاهی را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که این قارچ‌ها قادر به کاهش نفت در محیط کشت می‌باشند و بیشترین میزان کاهش و حذف نفت برای قارچ *Aspergillus sp.* در محیط کشت ۱۰ درصد نفت و برای قارچ *Acromonium sp.* در محیط کشت ۲ درصد نفت مشاهده گردید. نتایج حاصله نشان می‌دهد که قارچ‌های *Aspergillus sp.*، *Acromonium sp.* نقش مهمی در زیست پالایش آلودگی نفتی دارد و قادر به تجزیه‌ی نفت خام می‌باشد.

داس و موکرجی (۲۰۰۷) به کارگیری دو گونه باکتری *Bacillus* و *Pseudomonas* را برای کاهش مجموع TPHs در خاکی از منطقه شمال شرقی هند بررسی نمودند. نتایج پژوهش آن‌ها حاکی از توانایی هر دو باکتری در کاهش TPHs در خاک‌های آلوده بود. طلایی و همکاران (۱۳۸۸) نیز در مطالعه‌ی خود موفق به جداسازی ریزجاندارانی از خاک‌های آلوده به بنزین و گازوئیل در یک پمپ بنزین شدند که قادر به تجزیه گازوئیل بود. همچنین آن‌ها در مطالعه‌ی دیگری در همان سال نیز موفق به جداسازی میکروارگانیسم‌های دیگر شده بودند که قادر به تجزیه‌ی نفت خام شناور بر روی آب بود (طلایی و همکاران، ۱۳۸۸).

سعیدی و همکاران (۱۳۹۰) تجزیه‌ی زیستی نرمال هگزادکان بوسیله‌ی باکتری‌های سودوموناس آرژینوزا (P.A)، پوتیدا (P.P) و باکتری‌های بومی مناطق آلوده را در حضور منبع غذایی در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. تیمارها شامل ۲ سطح نرمال هگزادکان (۱۰۰۰۰ ppm و ۲۵۰۰)، ۶ سطح باکتری (سودوموناس آرژینوزا (P.A) و پوتیدا (P.P)، ۳ جدایه از منطقه آلوده اهواز (IA)، سرخس (IS) و تهران

(IT) و بدون باکتری) و ۲ سطح کود شیمیایی (۰ و ۲ تن در هکتار) بودند. نتایج نشان داد که میزان تجزیه‌ی نرمال هگزادکان با گذشت زمان و در حضور کود شیمیایی افزایش معنی‌داری داشته است.

مقیمی و همکاران (۲۰۱۶) در یک پژوهش اثر ۳۰ گونه قارچ جداسازی شده از خاک‌های آلوده به نفت خام را بر میزان TPH خاک را بررسی نمودند. نتایج این پژوهش نشان داد که قارچ G-05 با ۶۶٪ میزان حذف نفت طی ۱۵ روز توانمندترین قارچ در حذف هیدروکربن‌های نفتی می‌باشد. شناسایی‌های ریخت شناسی و مولکولی نشان داد که G-05 متعلق به جنس *Phaeosphaeria spp.* است. هدایت و همکاران (۲۰۱۲) طی یک پژوهش از قارچ *Fusarium* در جهت تخریب زیستی ترکیبات آلیفاتیک نفتی استفاده نمودند و میزان ۴۸/۸ درصد کاهش در این ترکیبات را در طی ۲۰ روز گزارش کردند.

جرفی و همکاران (۲۰۱۶) در یک پژوهش یک گونه باسیلوس با قابلیت تولید سورفکتین در آزمایشگاه خالص سازی گردید. یک کنسرسیوم باکتریایی مخلوط متشکل از سه گونه باکتریایی با قابلیت متابولیسم از سواحل آلوده جزیره خارک جداسازی و به عنوان بذر میکروبی استفاده گردید. نمونه خاک‌ها دارای آلودگی طبیعی و مصنوعی طی ۹ هفته متوالی مورد اصلاح زیستی قرار گرفتند. بازده حذف نفت خام در نمونه‌های نمونه‌های حاوی بیوسورفکتانت در خاک‌های آلوده مصنوعی و طبیعی به ترتیب ۸۲ و ۳۹ درصد بود. همچنین بازده حذف در نمونه‌های دارای آلودگی مصنوعی و فاقد بیوسورفکتانت ۱۱ درصد بوده است. فراجی و همکاران (۲۰۱۴) در یک پژوهش تجزیه نفتالن و نفت خام را به وسیله سویه‌های استرپتومایسس مطالعه نمودند که بازده حذف نفتالن به وسیله سویه‌های مولد بیوسورفکتانت ۸۱ الی ۸۳ بوده است.

۲-۱-۳-۲ گیاه‌پالایی

گیاه‌پالایی روشی مناسب جهت پاک‌سازی محیط از آلاینده است. گیاه‌پالایی (Phytoremediation) واژه جامعی است که از سال ۱۹۹۱ برای استفاده از گیاه جهت کاهش میزان تحرک، سمیت آلاینده از خاک و آب و یا دیگر محیط‌های آلوده استفاده است. این روش یک روش نوید بخش در حذف آلاینده‌ها از خاک

است که به دلیل ارزانی و ایمنی بیشتر محیط نسبت به سایر روش‌های متداول فیزیکی شیمیایی تصفیه خاک ارجحیت دارد (آل‌منصوری و همکاران، ۲۰۱۷).

یک آزمایش تحقیقاتی توسط پرادهان و همکارانش (۱۹۹۸) برای تعیین پتانسیل پالایش گیاهی برای اصلاح خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های پلی آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs)، در انستیتوی تکنولوژی گاز (IGT) صورت گرفت. در این پژوهش ۳ گونه متفاوت از گیاهان شامل یونجه (*Medicago sativa*)، ارزن (*Panicum virgatum*) و علف ساقه آبی کوچک (*Schizachyrium scoparium*) برای مدت ۶ ماه در آزمایشگاه مورد مطالعه قرار گرفت. استفاده از یونجه و ارزن برای تیمار اولیه از خاک آلوده به PAH، ۵۷ درصد کاهش را در کل غلظت آن، بعد از گذشت ۶ ماه نشان داد. تحقیقات پیشرفت قابل ملاحظه‌ای را از نظر کارایی و هم از نظر اقتصادی در استفاده از روش گیاه‌پالایی برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده نشان داده است (حبیبی و همکاران، ۱۳۹۶). لیسته و همکاران در سال ۲۰۰۷ در یک آزمایش گلخانه‌ای توانایی یک نوع علف (چمن چاودار)، یک لگوم (ماشک تابستانه) و یک گیاه چلیپایی (خردل سفید) برای رشد در خاک آلوده به نفت خام مورد بررسی قرار دادند. غلظت هیدروکربن‌های نفتی خام در خاک، ۵۱۷ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. بعد از ۹۵ روز ۶۸/۷ درصد مقدار TPH اولیه و ۵۹ درصد PAHs در خاک کشت شده ناپدید شده بود.

شهریاری و همکاران (۱۳۸۶) تأثیر مخلوط گیاه یونجه (لگوم) و فسکیو (گراس) را بر خاک آلوده به غلظت‌های مختلف نفت خام (۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ درصد) برای مدت ۱۲۰ روز مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد تعداد کل باکتری‌ها در غلظت نفت ۵ درصد و بیش‌تر، نسبت به شاهد و غلظت‌های کم افزایش یافت ولی بین غلظت‌های ۵، ۷ و ۱۰ درصد از این نظر اختلاف معنی‌داری دیده نشد. شمارش تعداد باکتری‌های نفت‌خوار خاک نیز نشان داد که بیشترین تعداد باکتری‌های نفت‌خوار در خاک با آلودگی ۱۰ درصد دیده شد. کاهش نفت خام در نمونه‌های خاک دارای گیاه در مقایسه با غلظت متناظر آن‌ها در نمونه‌های فاقد گیاه بیشتر بود. بررسی مقدار کاهش نفت خام در خاک دارای گیاه نشان داد که بیشترین

مقدار کاهش (۳۶/۷ درصد) در نمونه‌ی ۱ درصد نفت خام بود که در حالیکه کمترین مقدار کاهش نفت، در نمونه‌ی ۱۰ درصد به میزان ۵/۶ درصد بود.

ریاحی و همکاران (۱۳۹۰) رشد و نمو گیاه سورگوم و توانایی گیاه‌پالایی آن را در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی بررسی کردند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر هیدروکربن‌های نفت روی فاکتورهای رشد در گیاه سورگوم و همچنین ارزیابی میزان پتانسیل گیاه‌پالایی این گیاه در بهبود خاک‌های آلوده به ضایعات نفتی بود. نتایج حاکی از کاهش TPHs در طول نمونه برداری‌ها بود که بیشترین میزان حذف مربوط به نیمه نخست آزمایش بود. همچنین در بررسی تأثیر اعمال مکمل در میزان توان گیاه‌پالایی مشخص شد مکمل پیت روی رشد گیاه تأثیر مثبت دارد. در پایان آزمایش نتایج حاکی از این امر بود که گیاه سورگوم می‌تواند رفتار مؤثر و امیدوار کننده‌ای را در حذف آلاینده‌های نفتی داشته باشد.

مباشری و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادن که گیاه *Bassia scoparia* (L.) A. J می‌تواند به بهبود خاک‌های شنی آلوده به نفت کمک کند. در این پژوهش بازده متوسط تخریب نفت تا ۵۷/۵ درصد در این خاک‌های آلوده به نفت بعد ۵ ماه مشاهده شد.

هاچینسون و همکاران (۲۰۰۱) طی مطالعه‌ای بر روی گیاه پالایی رسوبات آغشته به هیدروکربن‌های نفتی به میزان ۳۵ گرم در کیلوگرم رسوبات میزان حذف TPHs در تیمارهای کشت شده گیاه و بدون گیاه را به ترتیب ۳۵ و ۱۸ درصد گزارش کردند.

کچوارسی و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای با کاربرد گیاه چچم چند ساله (*Perennial lolium perenne*) ryegrass I. perene بر روی خاک‌های آلوده به گازوئیل به میزان ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم، حذف TPHs را در دامنه ۸۴ - ۸۱ درصد گزارش نمودند.

علیخانی و همکاران (۱۳۹۰) در یک پژوهش با هدف پاک‌سازی مناطق آلوده به هیدروکربن‌های نفتی، سه گیاه جو، ماش و لوبیا از دو خانواده‌ی گراس و لگومینه انتخاب و در سه سطح تراکم (۱، ۲ و ۳ درصد)

در خاک آلوده و غیر آلوده کشت نمودند. آلودگی خاک در سه مرحله جوانه زنی، رشد رویشی و زایشی گیاه اندازه گیری کردند. نتایج نشان داد که حداکثر نرخ پالایش مربوط به گیاه جو در تراکم ۳ درصد بود که میزان آلودگی را تا ۴۵/۷۸ درصد کاهش داد. به طور کلی به علت مقاومت بالای گیاه جو به آلودگی در طول رشد و نرخ پالایش زیاد آن، در میان تیمارهای مورد آزمون، این گیاه مناسب ترین تیمار جهت گیاه پالایی در این پژوهش تشخیص داده شد.

لرستانی و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی به مطالعه و بررسی توانایی استقرار و رشد گونه های خلر (*Lathyrus sativus*)، عدس (*Lens culinaris*)، شنبلیله (*Trigonella foen*)، شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabr*) از خانواده بقولات (*fabaceae*) در خاک آلوده به نفت خام سبک به غلظت های مختلف (۲، ۳، ۴، ۱ درصد) در مدت ۴۰ روز پرداختند. همچنین به منظور بررسی پتانسیل حذف ترکیبات نفتی از خاک با استفاده از روش گیاه پالایی، میزان کاهش ترکیبات نفتی از خاک آلوده توسط این گونه ها اندازه گیری شد. کاهش ترکیبات نفتی از خاک به میزان ۷۳/۳ درصد در تیمار ۱ درصد در گونه خلر و همچنین کمترین کاهش ترکیبات نفتی به میزان ۳۸/۶ درصد در تیمار ۴ درصد در گونه شنبلیله مشاهده شد.

المنصوری و همکاران (۲۰۱۷) در یک آزمایش گلخانه ای برای تعیین قدرت پالایش گیاه پریموز (*Ludwigia octovalvis*) در خاک های آلوده به هیدروکربن های نفتی یک آزمایش انجام دادند. گیاه پریموز را در غلظت های مختلف TPH در خاک های آلوده (۱، ۲، ۳ گرم بر کیلوگرم) تست کردند که نتایج این پژوهش نشان داد که حداکثر حذف TPH در طی دوره ۷۲ روزه ۷۹/۸ درصد برای غلظت ۲ گرم در کیلوگرم می باشد. در حالی که حداکثر حذف در نمونه شاهد ۴۸/۶ درصد بوده است.

لو و همکاران (۲۰۱۰) در یک پژوهش اثر کشت نوعی گراس را در زیست پالایی خاک آلوده به نفت (۸۲۴۷ میلی گرم TPHs بر کیلوگرم خاک) بررسی کردند. نتایج بدست آمده بعد از ۵ ماه نشان داد که غلظت آلاینده ها تا ۴۷ درصد در خاک های دارای گیاه و ۱۱ درصد در خاک های بدون گیاه کاهش یافت.

بختیاروند و همکاران در سال ۱۳۹۲ طی یک پژوهش ابتدا با جمع‌آوری خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تیمارهای با غلظت آلودگی ۱ و ۲/۵ درصد آلودگی تهیه گردید. سپس گلدان‌های آزمایشی به مدت شش ماه جهت تعیین میزان TPH مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج حاصل میانگین حذف TPH در خاک کشت شده با گیاه (۲۸/۴۲ درصد) به طور معنی داری بیشتر از حذف TPH در خاک بدون گیاه (۱۲/۲ درصد) بود.

فرامرزی سپهر و همکاران (۱۳۹۲) در یک مطالعه گلخانه‌ای توانایی اکوتیپ یزد گونه (*Polypogon monspeliensis*) در پالایش خاک‌های آلوده به نفت پالایشگاه نفت تهران مورد بررسی قرار داد. میزان نفت خام کل، در پنج تیمار مختلف که در آن خاک‌های آلوده با خاک کشاورزی به ترتیب با نسبت‌های (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) با هم مخلوط گردیده بود و در مقایسه با تیمارهای شاهد فاقد پوشش گیاهی با همین غلظت از آلودگی‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای این گیاه توانایی کاهش معنی‌دار آلودگی نفت خام در سطح احتمال ۹۵ درصد را دارد. بیشترین کاهش نفت خام در تیمار ۱۰ درصد خاک آلوده مشاهده شد که سهم گیاه‌پالایی در این تیمار ۶۹/۳۳ درصد بود بررسی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نفت خام میزان حذف نفت خام از خاک کاهش یافت.

علایی و همکاران (۱۳۸۹) در مطالعات انجام شده در حوزه‌های مختلف نفت‌خیز نشان دادند که ترکیب فناترن از خانواده هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) آلاینده غالب در اغلب مناطق اطراف تأسیسات نفت و گاز است. در این پژوهش به مطالعه نقش گیاه سورگوم (*Pers. Sudanense Sorghum*) در حذف آلاینده فوق با روش گیاه‌پالایی پرداخته شده است. پس کشت گیاه انتخابی در محیط گلخانه با شرایط مشابه منطقه مورد نظر روند تغییرات غلظت آلاینده در خاک در مدت ۱۶ هفته (دوره رشد کامل گیاه) دنبال شد. به منظور بررسی تأثیر آلاینده بر فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه، ابتدا بیومس تولیدی و سپس میزان تجمع آلاینده مذکور در گیاه و خاک مطالعه شد. اندازه‌گیری غلظت

آلاینده توسط دستگاه انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که گیاه مذکور میزان حذف آلاینده در خاک را در شرایط اعمال شده تا ۲۰ درصد افزایش داده است.

عابدی کوپایی و همکاران (۱۳۹۱) طی یک پژوهش به منظور بررسی روند کاهش درصد ترکیبات نفتی پس از مرحله رشد با نمونه‌گیری از خاک محیط ریزوسفر هر ۱۰ روز یکبار آنالیز درصد ترکیبات نفتی نمونه‌های خاک را انجام دادند. نتایج آزمایش‌های گیاه‌پالایی با استفاده از گیاه لولیم ۶۵ درصد کاهش ترکیبات نفتی خاک را طی مدت ۱۷ هفته نشان داد.

هاچینسون و همکاران (۲۰۰۱) نشان داده‌اند که زمان کافی برای استقرار و رشد گیاه در خاک آلوده به عنوان فاکتوری مهم در فرایند گیاه‌پالایی محسوب می‌شود. در آزمایش‌های آن‌ها که در شرایط گلخانه‌ای انجام شد، با کاشت گیاهان برموداگراس و فستوکا در خاک آلوده به لجن نفتی، بررسی اثر پوشش گیاهی و مقادیر مختلف کودهای ازته و فسفره در تجزیه لجن‌های نفتی، دریافتند که گیاه برموداگراس در شش ماه اول آزمایش، به میزان ۴۹ درصد، مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی را کاهش داده و در شش ماه دوم آزمایش، این میزان ۶۵ درصد برای برموداگراس، ۶۲ درصد برای فسکیو رسید. آن‌ها گیاه‌پالایی را به عنوان یک روش مفید برای حذف هیدروکربن‌های نفتی در خاک معرفی کرده‌اند، به شرط آن که زمان لازم و کافی برای استقرار و رشد گیاه در خاک و تجزیه بیولوژیک فراهم شود.

پان و همکاران (۲۰۰۸) مکانیسم‌ها و راندمان حذف و پاک‌سازی هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) در خاک‌ها را توسط الگوهای کشت متفاوت با گیاه خردل (*Brassica campestris*) و گیاه یونجه (*Medicago sativa*) به وسیله‌ی آزمایش‌های گلدانی مطالعه کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که راندمان پاک‌سازی تحت کشت مخلوط یونجه و خردل بطور معنی‌داری از تک کشتی وقتی که غلظت‌های اولیه‌ی فنانترن و پیرن به ترتیب ۳۲۲/۶-۲۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۳۲۱/۴۲-۲۰/۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود تجاوز کرد. بعد از ۷۰ روز پس از کشت، مقادیر PAHs قابل استخراج در خاک تحت کشت مخلوط خیلی کمتر از تحت تک کشتی بود. حدود ۸۳/۵۲-۶۵/۱۷ درصد از فنانترن و ۷۵/۳۴-۶۰/۰۹

درصد از پایرن از خاک تحت کشت مخلوط حذف شده بود که بطور متوسط ۴۳/۲۶ و ۴۰/۳۸ درصد برای فنانترن و ۱۱/۳ و ۱۶/۲۹ درصد برای پایرن از خاک تحت تک کشتی بیشتر بود. ظاهراً یونجه و خردل PAHs را از خاک‌ها جذب و انباشته کرده بودند. غلظت‌های PAHs بطور یکنواخت در گیاهان با افزایش غلظت PAHs اولیه در خاک افزایش یافت، تجمع PAHs در گیاهان بصورت توالی ذیل: ریشه‌ها < بخش‌های بالایی، فنانترن < پایرن و تک کشتی < کشت مخلوط در همان سطح آلودگی را نشان داد. با وجود حضور پوشش گیاهی پاک‌سازی PAHs در خاک‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافت و شرکت ضایعات بی‌جان، جذب گیاهی، تجمع و تخریب میکروبی خیلی کمتر از فعل و انفعالات میکروبی-گیاهی در فرایند گیاه‌پالایی بود؛ بنابراین برهم‌کنش میکروبی-گیاه برای افزایش پاک‌سازی آلودگی PAHs خاک تحت مدل‌های کشت مخلوط مکانیسم‌های اصلی هستند. نتایج امکان‌پذیری تشکیل گیاه‌پالایی چند گونه‌ای را برای بهبود راندمان پاک‌سازی PAHs پیشنهاد می‌کند که ممکن است تجمع PAHs در محصولات را کاهش دهد و بنابراین خطر آن‌ها را نیز کاهش می‌دهد.

۲-۳-۲ روش‌های دیگر پاک‌سازی آلودگی نفتی

علاوه بر روش‌های زیستی رایج ذکر شده، روش‌های زیستی، فیزیکی و شیمیایی دیگر نیز برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی وجود دارند که در ادامه به آن اشاره شده است.

۲-۳-۲-۱ جانوران خاکزی

یکی دیگر از روش‌های زیستی استفاده از کرم‌های خاکی است. کرم‌های خاکی که توانایی بقا در خاک‌های آلوده را دارند با حفاری‌های پیوسته در خاک آلوده با تغییر شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک، افزایش هوادهی و دسترسی میکروب‌های خاک به آلاینده‌ها سبب سرعت بخشیدن به فرایند حذف آلاینده‌های نفتی از خاک می‌شوند (جعفری فرجام و همکاران ۱۳۹۴).

شفر و همکاران (۲۰۰۵) پویایی جمعیت و فعالیت میکروبی در خاک‌های آلوده به نفت که با یا بدون کرم‌های خاکی خوابانیده شده بودند مطالعه کردند. ۳ گونه‌ی کرم خاکی (*Eiesenia*)

fetida *Allolobophora chlorotica*, *Lumbricus terrestris*) در خاک آلوده به نفت خام با غلظت ۱۰۰۰۰ ملی گرم در کیلوگرم هیدروکربن‌های نفت خام کل (TPH) و یک خاک شاهد به مدت ۲۸ روز با مخلوط کود دامی و یا مکمل کود گاوی خوابانیده شده بودند و در خاک‌های آلوده به نفت خام، تنفس و غلظت زیست توده میکروبی با اصلاح توسط کرم خاکی بطور معنی‌داری افزایش یافت و غلظت‌های TPH بطور معنی‌داری کاهش یافت. این اثرات در تیمارهای با *A. chlorotica* احتمالاً به دلیل تفاوت در رفتار گونه‌های مختلف، کمتر مشهود بود. پویایی جمعیت میکروبی به‌وسیله‌ی آنالیزهای اسید چرب فسفولیپیدی (PLFA) توصیف شده بود. بعد از ۲۸ روز تغییرات مشابه در ترکیب PLFA خاک‌های آلوده به نفت خام صرف نظر از گونه‌های کرم مشاهده شده بود. نسبت قارچی:باکتریایی در حضور کرم‌ها افزایش یافته بود. نتایج نشان دادند که کرم‌های خاکی می‌توانند بطور مثبت در پاک‌سازی زیستی خاک‌های آلوده به نفت شرکت کنند اما ممکن است اثرات آن‌ها وابسته به گونه باشد.

۲-۲-۳-۲ کمپوست کردن

یکی از روش‌های اصلاح زیستی روش کمپوست کردن است یک روش هوازی است که به صورت عملیات افزودن مواد آلی به خاک تعریف می‌شود. از مواد آلی اصلاح کننده‌ای که معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به انواع کودها، لجن فاضلاب، تکه‌های چوب، ضایعات باغی و پسماندهای غذایی اشاره نمود. و همچنین فضایی متخلخل برای عبور جریان هوا به وجود می‌آورد که باعث کاهش آلاینده‌های نفتی در خاک می‌شود (سیزیوچاک و روشیک‌دولوسکا، ۲۰۱۳).

آدسودوم و همکاران (۲۰۰۸) افزودن فضولات خوکی، مرغی و گاوی بر خاک آلوده به TPH را بررسی کردند و بیان کردند که این مواد موجب تحریک زیستی می‌شود و کود گاوی در بلند مدت بیشترین نرخ حذف TPH را داشته است.

شکوهیان و مرادی (۱۳۹۲) طی یک آزمایش به منظور پاک‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (TPH) از کود گاوی به عنوان ماده اصلاح‌کننده و تأمین کننده‌ی مواد مغذی مورد نیاز

میکروارگانیسیم‌ها بهره‌مند شدند. در این راستا، خاک به صورت مصنوعی با غلظت ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به گازوییل آلوده شد و تیمارهای آزمایش با نسبت‌های اختلاط خاک آلوده به کود گاوی، ۱ به ۰/۱۵، ۱ به ۰/۳، ۱ به ۰/۵ و ۱ به ۱ وزن مرطوب مواد در ۳ تکرار تهیه شدند. برای بررسی و شناخت شرایط محیطی حاکم بر فرایند اصلاح، نسبت‌های C/P، C/N و همچنین تعداد کل میکروارگانیسیم‌ها در ابتدا هفته پنجم و انتهای آزمایش هفته ۱۱ اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد که تجزیه‌ی گازوئیل به طور معنی‌داری با اضافه کردن کود گاوی به خاک آلوده نسبت به تیمار کنترل افزایش یافت. نتایج حاکی از آن است که بیش‌ترین میزان تجزیه در ۵ هفته ابتدایی رخ داده است به طوری که تیمار ۱ به ۰/۵، ۵۰ درصد کاهش TPH را نشان می‌دهد. پس از این زمان، روند حذف گازوئیل سرعت کمتری را تجربه کرد و در پایان هفته ۱۱ تیمار ۱ به ۱ با ۶۲ درصد حذف TPH عملکرد بهتری نسبت به سایر تیمارها دارا بوده است. آنالیز آماری در این پژوهش نشان می‌دهد که همبستگی مناسبی بین درصد حذف TPH و تعداد کل میکروارگانیسیم‌ها وجود داشته است.

جعفری و همکاران (۱۳۹۱) طی یک پژوهش به منظور بررسی و بهینه‌سازی شرایط میکروارگانیسیم‌های بومی خاک با استفاده از کودهای شیمیایی ازت، فسفر، پتاسیم و کمپوست زباله شهری با هدف پاک‌سازی خاک آلوده به نفت کوره (۱۳۰ گرم در کیلوگرم)، سودمندی ماده اصلاحی و نسبت بهینه اختلاط آن با خاک آلوده را بررسی نمودند. بدین منظور، کمپوست زباله شهری با سه سطح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد به همراه کودهای شیمیایی ازت، فسفر و پتاسیم با دو نسبت ۱:۱:۱۰ و ۱:۱۰:۲ با خاک آلوده مخلوط شد. پس از طی زمان تعادل اولیه (۱۰ روز) مقدار کاهش کل آلاینده هیدروکربنی خاک تحت شرایط رطوبتی و هوادهی مناسب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش درصد کمپوست، مقدار آلاینده‌های خاک به گونه‌ای کاهش می‌یابد که تیمار ۱۵ درصد کمپوست زباله شهری بیشترین مقدار کاهش را به اندازه ۵۹ تا ۶۲ درصد ایجاد می‌کند. نتایج استفاده از دو نسبت کودی مورد استفاده، نشان دهنده سودمندی بهتر کود NPK با نسبت ۱:۲:۱۰ بود. کاربرد مواد اصلاحی برای همه موارد به کار رفته نشانگر تأثیر مناسب باکتری‌های تجزیه کننده آلاینده‌های هیدروکربنی، به ویژه در نخستین هفته پس از تعادل

تیمارها به دلیل تجزیه سریع تر ترکیبات زنجیره کوتاه و ساده مانند آلکان ها می باشد. در این پژوهش، بین میزان تجزیه TPH و CO₂ حاصل از فعالیت میکروبی، همبستگی معنی داری مشاهده شد که نشان دهنده ارتباط تجزیه نفت کوره به وسیله ریزجاندارها تجزیه کننده نفت است. اعمال تیمار همزمان کمپوست زباله شهری ۱۵ درصد و کود شیمیایی NPK با نسبت ۱۰:۲:۱ در بازه زمانی ۶ هفته مؤثرترین تیمار و روشی بهینه برای اصلاح خاک های آلوده به نفت کوره منطقه با میزان تجزیه ۶۲ درصد بوده است.

رز و همکاران (۲۰۱۰) یک آزمایش میدانی ۸ ماهه، با استفاده از لجن فاضلاب کمپوست شده (CS) و لجن فاضلاب تازه (FS) و خاک اصلاح نشده (US) بر روی یک خاک نیمه خشک آلوده به هیدروکربن قدیمی انجام دادند. تیمارهای FS (لجن فاضلاب تازه) درصد بیشتری از تخریب هیدروکربن (۴۶ درصد) و بالاترین جمعیت قارچی و باکتریایی را نشان داد. آنالیز با دستگاه الکتروفورز (DGGE) تفاوت در ساختار جوامع قارچی و باکتریایی خاک های آلوده به هیدروکربن های نفتی که اصلاح کننده به آنها اضافه شده در مقایسه با خاک (شاهد) را نشان داد. راسته ی اصلی مشاهده شده در تیمار زیست پالایی *Acinetobacter* و *Ascomycota* بودند. نتایج نشان داد افزایش اصلاح کننده های زیستی به ویژه لجن فاضلاب به عنوان یک استراتژی مفید تأثیر مفیدی در اصلاح خاک های آلوده به هیدروکربن نفتی دارا می باشد.

آبیوی و همکاران (۲۰۱۰) سه زباله ی آلی (پوست موز BS، دانه ی استفاده شده در کارخانه ی آبجوسازی BSG و کمپوست قارچ استفاده شده SMC) آلوده شده با روغن موتور مصرف شده را استفاده کردند تا پتانسیل این زباله های آلی را در تسهیل تخریب زیستی روغن موتور مصرف شده در خاک را تعیین کنند. سرعت تخریب زیستی روغن موتور در یک دوره ی ۸۴ روزه تحت شرایط آزمایشگاهی مطالعه شده بود. تعداد باکتری های مصرف کننده ی هیدروکربن در خاک اصلاح شده با زباله ها در مقایسه با خاک اصلاح نشده (شاهد) در طول ۸۴ روز مطالعه زیاد و بین 8.0×10^6 cfu/g و 1.0×10^6 بود. خاک آلوده به نفت (روغن موتور) اصلاح شده با BSG بیشترین کاهش را در هیدروکربن کل نفت خام با تلفات خالص ۲۶/۷۶ درصد در ۸۴ روز در مقایسه با سه تیمار دیگر نشان داد. مدل سینیتیکی مرتبه اول آشکار کرد

که BSG در بین سه زباله آلی استفاده شده با ثابت سرعت تخریب زیستی ۰/۳۱۶۳ واحدش چیه؟؟؟؟ بر روز و نیمه عمر ۲/۱۹ روز بهترین بود. نتایج بدست آمده نشان داد که پتانسیل زباله‌های آلی برای پاک‌سازی زیستی نفت (روغن موتور) به ترتیب دانه‌ی مصرف شده در کارخانه‌ی آبجوسازی <پوست موز <کمپوست قارچ مصرف شده بود.

۲-۳-۲-۳ ازونه کردن

ازن یک اکسید کننده قدرتمند و بسیار فعال می‌باشد که در صنعت شیمیایی به عنوان عامل اکسید کننده بکار برده می‌شود. ازنه کردن فرایندی است که آلودگی‌های خطرناک آلی را به ترکیبات بی خطر، کم تحرک و بی اثر تبدیل می کند (جلابر و همکاران، ۱۳۹۳).

کولیک و همکاران (۲۰۰۶) برای اصلاح خاک‌های آلوده به نفت از روش اکسیداسیون با استفاده از ازنه شدن به همراه ریزجانداران در تخریب PAH به کار بردن که در این پژوهش به این نتیجه رسیدن که استفاده از روش شیمیایی و بیولوژیکی کاربرد بیشتری در حذف PAH از خاک دارد.

آن و همکاران (۲۰۰۵) پتانسیل تخریب PAH توسط میکروارگانیسم‌های بومی در خاک‌های ازونه شده را بررسی کردند. pH و غلظت میکروبی در خاک با افزایش زمان ازونه شدن کاهش یافته بود و کاهش بیشتر در خاکی که به مدت ۹۰۰ دقیقه ازونه شده بود مشاهده شد. بیشترین حذف بعد از زیست‌پالایی در خاک ۱۸۰ دقیقه ازونه شده مشاهده شده بود.

أماهونی و همکاران (۲۰۰۶) پتانسیل کاربرد ازون را با زیست‌پالایی برای حذف فنانترن از انواع متفاوت خاک‌ها را مطالعه کردند. میزان رطوبت خاک و حضور رس تأثیرمعنی‌داری را بر روی راندمان تخریب نشان داد. خاک‌های هوا خشک حذف بیشتری از فنانترن را نشان دادند و حضور رس راندمان درمان را کند نشان داد.

۲-۳-۲-۴ استخراج بخارات آلاینده

روش پاک‌سازی استخراج بخارات آلاینده‌ها (Soil Vapor Extraction) یک روش در محل برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده است که با استفاده از آن غلظت مواد فرار موجود در قسمت‌های غیراشباع خاک کاهش می‌یابد. در این روش با ایجاد خلأ در شبکه خاک گرادیان فشار منفی به وجود آمده و باعث حرکت بخارات به سمت چاه‌های استخراج می‌شود (خان و همکاران، ۲۰۰۴).

گیتی پور و همکاران (۱۳۹۵) به منظور حذف آلاینده‌ها از خاک‌های آلوده به بنزین از روش استخراج بخارات آلاینده‌ها (SVE) استفاده نمودند. بدین منظور نمونه خاک طبیعی غیر آلوده پس از آلوده شدن با بنزین با استفاده از روش SVE مورد پاک‌سازی واقع شده است. آزمایش‌های فرایند پاک‌سازی در سه بازه زمانی ۴، ۸ و ۱۲ ساعت و در سه دمای متفاوت ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. این پژوهش نشان داد که کارایی روش SVE در حذف بنزین از خاک بسیار مناسب بوده و در مقیاس آزمایشگاهی به بیش از ۹۹٪ می‌رسد. همچنین بر اساس نتایج آزمایش‌های صورت گرفته قابلیت حذف این ترکیبات با روش SVE رابطه معکوس با نقطه جوش آن‌ها دارد. ضمناً بالا بردن دمای آزمایش‌ها باعث تسریع در فرایند پاک‌سازی نمونه‌های خاک گردید. به طوری که افزایش دما از ۲۰ درجه سانی‌گراد به ۴۰ درجه سانتی‌گراد و نیز از ۴۰ درجه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد بازدهی حذف بنزین را در مدت ۱۲ ساعت به ترتیب ۱۰ و ۲۶ درصد بیش‌تر نمود. دستاورد حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که روش استخراج بخارات آینده جهت حذف ترکیبات آلی آروماتیک از خاک یک روش مناسب و کارا است که در صورت اجرای صحیح می‌توان به بازدهی بالایی در دفع این گونه آلاینده‌ها از خاک دست یافت.

۲-۳-۲-۵ سیستم فاز دوغابی

بوپاتی (۲۰۰۳ و ۲۰۰۴) محیط‌های بی‌هوازی را در سیستم‌های فاز دوغابی خاک تحت شرایط پذیرندهی الکترون برای زیست‌پالایی رسوبات سوخت دیزل را استفاده کرد.

اوکیه من و اوکیه من (۲۰۰۲) اثر لجن پردازش شدهی رزین طبیعی را بر تخریب هیدروکربن‌های نفت خام در خاک مطالعه کردند. نمونه‌های خاک آلوده به نفت خام (۵ قسمت نفت خام هوادیده در ۱۰۰

قسمت خاک؛ برابر با ۵۰۰۰۰ میلی گرم نفت در ۱ کیلوگرم خاک) در آب دیونیزه دوغاب شد (۳۰۰ درصد ظرفیت نگهداری آب خاک) و با مقادیر مختلف لجن پردازش شده‌ی رزین طبیعی (میزان نیتروژن ۶۲/۱۵mg/kg و میزان فسفر ۸/۷۵mg/kg) و دمای ۲۹ درجه سانتی گراد هوادهی و عمل آوری شدند. تغییرات در میزان هیدروکربن کل نمونه‌ی خاک با استفاده از تکنیک اسپکتوفتومتری در یک تابع زمانی تعیین شد. مقدار تخریب نفت خام در خاک عمل آوری شده با لجن به طور برجسته بیش تر از نمونه‌ی خاک عمل آوری نشده بود. راندمان تخریب زیستی هیدروکربن‌های نفت خام با استفاده از تکنیک فاز دوغاب با تکنیک فاز جامد قابل مقایسه بود.

۲-۳-۲-۶ احیاء

چانگ و همکاران (۲۰۰۲) تخریب هوازی PAHs را در انواع مختلف خاک‌های تحت شرایط غنی از مواد معدنی بررسی کردند و تحقیقات آن‌ها نشان داد که تخریب سریع تر PAH در یک مخلوطی از جاذب‌های PAH در مقایسه با حضور سوبسترای تنها مشاهده شد. تخریب بی‌هوازی PAH های ۲، ۳ و ۴ حلقه‌ای در شرایط خوابانیدن بهینه‌ی و pH برابر با ۸ و دمای ۳۰ درجه‌ی سانتیگراد مشاهده شد. در میان ۳ وضعیت مطالعه شده، وضعیت احیاء سولفاتی (SRC) بیشترین راندمان را در مقایسه با وضعیت متانوزنیک و وضعیت احیاء نیتراتی (NRC) را نشان داد.

کووانو و شیمیزو (۲۰۰۶) زیست‌پالایی خاک آلوده به هیدروکربن مشتق شده از زغال سنگ تحت SRC (وضعیت احیاء سولفاتی) در بیوراکتورهای (راکتورهای زیستی) ستون خاک را گزارش کردند. داده‌های آزمایشی تاثیر بیشتر SRC را در تبدیل PAHs با وزن مولکولی بالاتر نسبت به PAHs با وزن مولکولی پایین تر را آشکار کرد. در این پژوهش پیشنهاد شد که ائتلاف فرآیندهای هوازی بعد از عملیات بی‌هوازی می‌تواند در پاک‌سازی بیشتر PAHs با وزن مولکولی پایین تر نتیجه دهد.

۲-۳-۲-۷ مواد شوینده

شوینده‌ها طی دو مکانیسم اصلی به حرکت درآوردن ذرات نفتی و انحلال ترکیبات نفتی در آب باعث تقویت حذف ترکیبات نفتی از خاک می‌شوند. شوینده در لایه مرزی بین آلاینده و محلول عمل می‌کند. هر ملکول شوینده دارای یک بخش آب‌گریز و یک بخش آب‌دوست است. بخش آب‌گریز به سمت آلاینده متمایل و به آن متصل می‌شود و قسمت آب‌دوست با آب پیوند هیدروژنی برقرار کرده و باعث جدا شدن آلاینده از سطح آلودگی و در نتیجه منجر به حذف آلاینده می‌شود (سیدرضوی و همکاران، ۱۳۹۰).

سیدرضوی و همکاران (۱۳۹۰) تاثیر شوینده‌ی زیستی ساپونین بر حذف نفت خام از خاک با غلظت‌های آلودگی ۳۰۰۰۰ ppm و ۱۰۰۰۰ ppm در ستونی از خاک به ارتفاع ۱۵ سانتیمتر و قطر ۹ سانتیمتر پس از ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار دادند. مشخصه‌های آزمایشگاهی و مقادیر مختلف موادی که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند عبارتند از: غلظت محلول شوینده (۰/۵، ۰/۱ و ۰/۲ درصد وزنی)؛ pH (۴، ۷، ۹ و ۱۱)؛ نمک هیدروکسید سدیم به میزان ۰/۶ و ۰/۱ درصد وزنی و پلیمر XanthanGum نیز در مقادیر (۰/۷ و ۰/۲ درصد وزنی به عنوان مواد افزودنی برای حالات بهینه، برای بررسی امکان افزایش بازده حذف، مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد حالات بهینه‌ی حذف برای هر ۲ غلظت آلاینده در pH برابر با ۱۱ روی داده و غلظت محلول شوینده‌ی بهینه برای غلظت آلودگی ۱۰۰۰۰ ppm، ۰/۱ درصد وزنی و برای ۳۰۰۰۰ ppm، ۰/۲ درصد وزنی و بازده حذف نفت خام از خاک نیز به ترتیب ۶۹ و ۷۲ درصد است. نمک و پلیمر نیز در مقادیر ۰/۷ و ۰/۲ درصد وزنی (به ترتیب برای NaOH و XanthanGum) موجب افزایش نسبی بازده حذف تا ۷۱ و ۷۵ درصد شدند.

۲-۳-۲-۸ زمین‌پالایی

فرآیند زمین‌پالایی، فناوری پالایش خاک‌های آلوده سطحی است که باعث کاهش غلظت ترکیبات آلاینده نفتی از طریق تخریب زیستی این ترکیبات می‌شود. در این فناوری خاک آلوده به طور کامل برداشت شده و به صورت یک لایه با ضخامت کم روی سطح زمین گسترده می‌شود و سپس از طریق هوادهی خاک آلوده به واسطه زیروود نمودن آن، تأمین رطوبت کافی در خاک و گاهی افزودن عناصر غذایی و مواد

معدنی به خاک آلوده، فعالیت ریز جانداران هوازی تجزیه کننده نفت در خاک را تحریک می نمایند. حاصل این فرایند، تسریع و افزایش رشد و فعالیت ریز جانداران هوازی خاک و در نهایت تجزیه و تخریب آلاینده های نفتی در خاک است (بسالت پور و همکاران ۲۰۱۱).

گانگی و همکاران (۲۰۰۷) در یک مطالعه ی موردی از زمین پالایی خاک های آلوده به نفت خام در محل ریزش نفت دریافتند که اعمال هوادهی و کاربرد مواد آلی دارای نیتروژن و فسفر و تلقیح میکروبی باعث تجزیه ی ۷۵ درصد از آلاینده ها می شود.

بسالت پور و همکاران (۱۳۸۹) در یک پژوهش ابتدا امکان پالایش دو خاک آلوده به ترکیبات نفتی مناطق اطراف پالایشگاه تهران (لندفیل پالایشگاه و اراضی کشاورزی) به روش زمین پالایی طی یک دوره ۴ ماهه را بررسی کردند. سپس کاهش کل هیدروکربن های نفتی (TPHs) در خاک های که پیش از آن تحت فرایند زمین پالایی قرار گرفته بودند در ریزوسفر دو گیاه آگروپایرین و فسکیو بررسی شد. نتایج نشان داد که اعمال تیمار زمین پالایی موجب افزایش فعالیت و تنفس ریز جانداران هر دو خاک می شود. فعالیت آنزیم اوره آز در تیمار زمین پالایی در خاک کشاورزی به ترتیب در انتهای ماه های اول تا چهارم حدود ۲۱، ۴۵، ۲۶ و ۲۳ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود و برای خاک لندفیل نیز تنها در ماه چهارم تفاوت معنی داری بین تیمار زمین پالایی و تیمار شاهد دیده نشد. همچنین حدود ۵۰ و ۵۷ درصد کاهش در غلظت TPHs در انتهای دوره پژوهش به ترتیب در دو خاک لندفیل و کشاورزی در تیمار زمین پالایی نسبت به تیمار شاهد حاصل شد. در مطالعه گیاه پالایی حضور آلاینده های نفتی در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد موجب کاهش رشد و عملکرد ماده خشک گیاهان مورد مطالعه شد. تنفس میکروبی در ریزوسفر آگروپایرون و فیسکو در خاک لندفیل در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد بیشتر از خاک آلوده بدون گیاه بود. زمین پالایی در خاک لندفیل و در حضور فسکیو و آگروپایرون به ترتیب باعث کاهش بیش از ۲۰ و ۴۰ درصد از غلظت کل هیدروکربن های نفتی نسبت به خاک بدون گیاه شد و در خاک کشاورزی نیز آگروپایرون نسبت به فسکیو نقش مؤثرتری بر کاهش غلظت TPHs در این تیمار داشت.

۲-۳-۲-۹ افزایش کود و مواد اصلاح کننده

نشت نفت به خاک به علت ورود مقادیر عظیم کربن آلی به خاک، سبب بالا رفتن فاکتور C/N می شود که برای رشد و فعالیت ریزجانداران خاک نامناسب می باشد. با تامین مواد غذایی معدنی از طریق کوددهی و بهینه سازی شرایط رشد می توان سبب برقراری تعادل کربن و نیتروژن شده که این امر منجر به افزایش فعالیت میکروبی می شود که این افزایش فعالیت ریزجانداران موجب کاهش آلودگی های نفتی در خاک می شود (وایدرو و همکاران، ۲۰۱۷).

مینایی تهرانی و همکاران (۱۳۸۴) در یک تحقیق چگونگی تخریب زیستی نفت خام در خاک در مقیاس نیمه صنعتی (پایلوت) را مطالعه کردند. قطعه زمین هایی به ابعاد ۱×۲ متر و ارتفاع ۷۰ سانتی متر از سیمان تهیه شد و هر قطعه زمین شامل ۰/۸ متر مکعب خاک که به صورت دست ساز به ۲ درصد معادل (۲۰۰۰ ppm) نفت خام سنگین آلوده شد و مواد افزودنی شامل کود شیمیایی فسفات و نیترا، کود حیوانی و تراشه ی چوب به خانه های مختلف اضافه شد و روند تخریب زیستی نفت در هر خانه در مدت ۱۲ ماه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین کاهش به میزان ۶۵ درصد در زمینی که به آن کود شیمیایی و همزمان تراشه ی چوب داده شده بود دیده شد. در تیمار کود حیوانی مقدار کاهش در حدود ۶۰ درصد و در تیمار کود شیمیایی ، کاهش نفت در حدود ۵۵ درصد بود. در نهایت در تیمار شاهد میزان کاهش در حدود ۵۰ درصد بود. به این ترتیب مشاهدات آن ها نشان داد که استفاده ی همزمان از تراشه ی چوب و کود شیمیایی و یا استفاده از کود حیوانی در خاک می تواند راندمان تخریب زیستی نفت را بالا ببرد.

شریفی حسینی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی نفت خام چاه شماره ۶۹ میدان نفتی مارون، با غلظت ۱ درصد وزنی را بر سطح خاک اسپری و سپس کود شیمیایی NPK با غلظت ۰، ۱ و ۲ تن در هکتار را با ۳ تکرار به عنوان تیمار به خاک اعمال کردند. پس از مدت زمان ۵ و ۱۰ هفته ماندگاری تحت شرایط رطوبتی ۲۰ درصد وزنی و هوادهی مناسب، از ظروف نمونه برداری به عمل آمد. تجزیه ی مواد نفتی در

طی پروسه زیست‌پالایی در خاک اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تیمارهای اعمال شده باعث تجزیه‌ی ۴۵-۶۰ درصد آلودگی نفتی در خاک شدند و نتایج کروماتوگرافی گازی نیز کاهش در کلیه‌ی مقادیر نرمال آلکان‌ها و ایزوپروپیل‌ها مانند فیتان و پرستان را نشان داد، بنابراین اعمال تیمار کود شیمیایی با غلظت ۲ تن در هکتار به خاک‌های آلوده به نفت به مدت زمان ۵ هفته یک تیمار بهینه برای خاک‌های آلوده به نفت منطقه می‌باشد.

احمدی مقدم و کمانی (۱۳۸۳) گزارش کردند که کاربرد آنزیم‌های آزاد و غیر متحرک شده‌ی اکسیدو-ردوکتازها و هیدرولازها در خاک می‌تواند آلاینده‌های آروماتیک مانند ۲-۴ دی‌کلروفل و دی‌متوکسی‌فل را کاهش دهد. پایداری و کارایی چنین آنزیم‌هایی در خاک به ویژگی‌های فیزیک و شیمیایی و زیست‌شناختی خاک و همچنین اندازه و نوع مواد افزوده شده به خاک بستگی دارد.

۲-۳-۲-۱۰ روش تلفیق

سروی مغاللو (۱۳۹۱) طی یک پژوهش دو خاک آلوده با سطح آلودگی ۱ و ۲ درصد آلوده به نفت خام و چهار تیمار گیاه شبدر (T_1)، گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز (T_2)، گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر (T_3) و گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز و باکتری تجزیه‌گر نفت (T_4) را در فرایند زیست‌پالایی خاک آلوده مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعات نشان داد که با افزایش سطح آلودگی میزان ریشه و اندام‌های هوایی کاهش می‌یابد و درصد کلینیزاسیون در تیمارهای دریافت‌کننده قارچ میکوریزا کاهش معنی‌داری نداشت. با افزایش میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی میزان تجزیه ترکیبات نفتی در مقایسه با تیمار کشت گیاه به تنهایی در هر دو سطح آلودگی افزایش می‌یابد. بیشترین میزان تجزیه با مقدار ۸۵ درصد در تیمار دریافت‌کننده قارچ میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر در سطح آلودگی ۲ درصد مشاهده شد. نتایج کروماتوگرافی گازی نشان دهنده کاهش ۴۰-۸۰ درصدی نرمال آلکان‌ها و ایزوپروپیل‌ها همچون پرستان و فیتاندر در تمامی تیمارها دریافت‌کننده میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کننده ترکیبات نفتی بود.

دنگ و زنگ (۲۰۱۷) طی یک پژوهش با هدف حذف فنانترین از خاک با ترکیبی از گیاه یونجه، کرم خاکی و قارچ مولد پوسیدگی سفیدپرداختند. این آزمایش به مدت ۶۰ روز به طول انجامید. تلقیح کرم خاکی، قارچ مولد پوسیدگی سفید و گیاه یونجه می‌تواند سبب انباشته شدن فنانترین در گیاه یونجه شود. میزان حذف فنانترین در خاک تحت تیمارهای مختلف از جمله قارچ مولد پوسیدگی سفید، کرم خاکی، گیاه یونجه، کرم خاکی + گیاه یونجه، قارچ مولد پوسیدگی سفید + گیاه یونجه، کرم خاکی + گیاه یونجه + قارچ مولد پوسیدگی سفید به ترتیب برابر است با ۳۳، ۴۸، ۶۶، ۷۴، ۸۵ و ۹۳ درصد می‌باشد. مطالعه حاضر نشان داد که ترکیبی از گیاه یونجه، کرم خاکی و قارچ مولد پوسیدگی سفید یک راه مؤثر برای حذف فنانترین در خاک است.

دریابگی زند و همکاران (۲۰۱۰) گیاه‌پالایی هیدروکربن‌های نفت خام کل (PAHs) را با استفاده از گونه‌های گیاهی در ایران مطالعه کردند. هدف اصلی مطالعه‌ی آن‌ها بررسی اثر هیدروکربن‌های نفت خام با غلظت اولیه‌ی زیاد (حدود ۳/۵ درصد) بر روی ویژگی‌های رشدی ذرت (*Zea mays* L.) و تال فسکیو (*Festuca arundinacea*) و همچنین ارزیابی پتانسیل گیاه‌پالایی ۲ گونه‌ی گیاهی مذکور در خاک با آلودگی زیاد بود. برای بهبود شرایط تغذیه‌ای خاک و همچنین مطالعه‌ی اثر اصلاح کننده‌های خاک بر روی رشد گیاه، اصلاح کننده‌ی پیت نیز مطرح شد. گونه‌های گیاهی بکار رفته رفتار رشدی امید بخشی را در غلظت بالای آلاینده‌ای خاک نشان دادند. کاهش TPHs در انتهای مسیر آزمایش در همه‌ی تیمارها مشاهده شد. حداکثر حذف در تال فسکیو بدست آمد که تال فسکیو ۹۶/۳ درصد TPHs اولیه‌ی خاک را حذف کرد. اصلاح کننده‌ی پیت اثر مثبتی را بر روی رشد گیاه در خاک آلوده نشان داد. نتایج نشان دادند که ۲ گونه‌ی گیاهی مطالعه شده در حذف TPHs از خاک آلوده شده مؤثر بودند.

ظهرابی و همکاران (۱۳۹۶) طی یک پژوهش با هدف حذف نفت خام از خاک با ترکیبی تیمارهای مختلف از جمله بیوجار، قارچ آربوسکولار میکوریزا و ترکیبی بیوجاربه همراه میکوریزا توانایی دو گیاه شبدر و پنیرک در مقایسه با تیمارشاهد (بدون گیاه) در پالایش هیدروکربن‌های نفتی را ارزیابی نمودند. تحلیل

داده‌های به دست آمده نشان داد که بالاترین عملکرد گیاه شبدر مربوط به تیمار قارچ میکوریزا بود. کشت این گیاه میزان هیدروکربن‌های نفتی خاک را تا ۷۵ درصد در حضور قارچ و ۴۷/۵ درصد بدون حضور قارچ کاهش داد. همچنین بالاترین عملکرد گیاه پنیرک مربوط به تیمار ترکیبی پنیرک به همراه بیوچار و قارچ میکوریزا بود، کشت این گیاه میزان هیدروکربن‌های نفتی را تا ۷۵ درصد در شرایط حضور بیوچار و قارچ و ۳۵ درصد در شرایط عدم وجود سایر مواد اصلاحی کاهش داد.

۲-۴ گیاه‌شناسی علف بره

گیاه علف بره با نام علمی (*Festuca arundinacea*) از تیره گندمیان است و به وسیله بذر و گاهی ساقه‌های خزنده‌ی کوچک زیرزمینی تکثیر می‌شود. این علف هرز مناطق سرد را ترجیح می‌دهد. این گونه قادر است تابستان‌های گرم و زمستان‌های سرد را تحمل کند ارتفاع این گیاه به ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر می‌رسد. سیستم ریشه‌ها بسیار قوی، فشرده و عمیق آن ضمن تامین مواد غذایی مورد نیاز گیاه و افزایش مقاومت به خشکی، کنترل فرسایش خاک به ویژه در شیب‌های تند نیز بسیار موثر است. تعداد برگ سبز روشن از قاعده این گیاه می‌روید که بدون کرک هستند و طول آن‌ها به حدود ۲۵ سانتی‌متر و گاه بیش‌تر می‌رسد، سطح زیرین برگ صاف ولی سطح بالایی آن به دلیل وجود رگبرگ‌های برجسته زبر است، غلاف این گونه معمولاً کوتاه‌تر از میانگره است و ساقه را کاملاً دربر می‌گیرد، برگ‌ها به رنگ سبز روشن هستند و در طول دوره‌ی رشد این رنگ را حفظ می‌کنند زمانیکه برگ‌ها این گیاه جوان هستند به خوبی توسط انواع گروه‌های دام چرا می‌شوند. گل‌آذین در انتهای ساقه و به صورت خوشه‌ی گسترده به طول ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر قرار دارد، گل‌ها در داخل سنبلچه‌هایی قرار دارند که شامل ۳ تا ۵ گل است و ریشک کوتاهی نیز دارند. زیستگاه این گیاه در آذربایجان، همدان، فارس، لرستان، خراسان و تهران گزارش شده است در بعضی کشورها به عنوان گیاه علوفه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند ولی در ایران به عنوان گیاه مرتعی و در مزارع به عنوان گیاه هرز شناخته می‌شود (ربیعی، ۱۳۹۴).

۲-۵ گیاه‌شناسی جاروعلفی

جارو علفی گیاهی با نام علمی (*Bromus tomentellus*) از گندمیان علوفه‌ای بسیار مرغوب با شکل رویشی دسته‌ای پرپشت و فصل رشد سرد است که انتشار گسترده‌ای در کشور دارد. گیاهی علفی، ساقه پوشیده از غلاف‌های محصور با تارهای کوتاه مشبک درهم تنیده. ساقه افراشته به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر. برگ‌ها با پهنک باریک خطی، نوکدار، به طول ۲۰ سانتی‌متر، گل‌آذین سنبله و شامل مجموعه‌ای از سنبلک‌های منفرد است که غالباً بر روی دمگل‌های کوتاه قرار می‌گیرند. طول این سنبلک‌ها ۱ تا ۵ سانتی‌متر و شامل ۶ تا ۳۰ گلچه بوده و سرنیزه‌ای یا ۱۲ و عرض ۶ تا ۷ میلی‌متر، با حاشیه ناهموار و غشائی و شامل سه ریشک که دو تای آن مساوی و ریشک وسطی بلندتر و محکم‌تر می‌باشد و در زمان بلوغ و رسیدگی گیاه خمیده و پیچ‌خورده خواهند شد. این اندام غالباً به رنگ ارغوانی یا ارغوانی متمایل به قرمز است. ریشه‌های کلافی و بسیار قوی آن موجب مقاومت بسیار زیاد آن نسبت به چرای سنگین و حفظ خاک به ویژه در شیب‌های تند می‌شود. این گیاه به سرما، یخبندان و خشکی مقاوم است و حتی در سال‌های بسیار خشک نیز تجدید حیات طبیعی آن به سهولت انجام می‌گیرد. پراکنرگی گیاه جارو علفی بیشتر در مناطق شمال غرب، شمال، شمال شرق، غرب و مرکزی می‌باشد. مناطقی که بیشتر این گیاه می‌روید مراتع، دامنه کوه، استپ‌ها می‌باشد (ربیعی، ۱۳۹۴).

فصل سوم

مواد و روش ها

مواد و روش‌ها

۱-۳ تهیه خاک

در این پژوهش، خاک مورد مطالعه از شرکت خطوط لوله و مخابرات نفت لرستان واقع در ۲۰ کیلومتری جاده خرم‌آباد به پلدختر تهیه شد. نوع آلودگی خاک طبیعی و از محلی که بطور طبیعی آلوده به ترکیبات نفتی در اثر شکست خطوط لوله‌های نفت بود انتخاب شد. آلاینده‌ی هیدروکربنی خاک مورد نظر، از نوع نفت خام سبک بود. نفت خام حالت روغنی و سیاه رنگ دارد، نفت مایعی است که عمدتاً از دو عنصر هیدروژن و کربن تشکیل شده و دارای مقادیر کمتری از عناصر سنگین، و ترکیباتی مانند نیتروژن، اکسیژن و گوگرد می‌باشد. نفت به‌صورت خام نمی‌تواند مورد استفاده قرار گیرد و باید در پالایشگاه نفت مورد تصفیه قرار گیرد. نفت خام به جهت وجود ترکیبات گوگرد بوی نامطلوبی دارد. بخش اعظم نفت خام از هیدرات‌های کربن تشکیل شده و مقدار کمی عناصر دیگر نیز به آن مخلوط می‌گردد (لنوار و همکاران، ۲۰۱۶).

۱-۱-۳ ویژگی‌های خاک

در ابتدا خاک توسط غربال درشت الک شد تا ذرات درشت خاک و قلوه سنگ‌های آن که قابل خرد شدن نبودند از خاک جدا شود و سپس خاک از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد تا مخلوط یکنواختی حاصل گردد و به آزمایشگاه منتقل شد. مطالعه برخی ویژگی‌های نمونه‌های خاک دارای هیدروکربن‌های نفتی (نفت سبک) به شرح زیر می‌باشد. pH با عصاره ۱:۲ آب-خاک با کمک دستگاه pH متر (توماس ۱۹۹۶)، قابلیت هدایت الکتریکی خاک (EC) با عصاره ۱:۲ آب-خاک با کمک دستگاه هدایت سنج (رودس، ۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مواد آلی از روش والکلی بلاک (۱۹۳۴) استفاده شد. بافت خاک موجود در نمونه اولیه خاک (شنی) بود که در این پژوهش از روش هیدرومتری برای اندازه‌گیری بافت استفاده گردید (جدول ۱-۳). غلظت عناصر سنگین نظیر عناصر آرسنیک، کادمیوم، کروم، سرب و نیز عناصر آهن، روی، مس به کمک دستگاه ICP-MS اندازه‌گیری شد (جدول ۲-۳). هضم خاک‌ها با

اسید نیتریک و در دستگاه میکروویو (Mars 6 240/50, CEM company) به روش USEPA 3051 انجام شد. در این روش حدود ۰/۵ گرم خاک و ۹ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به داخل ستون‌های تفلون میکروویو ریخته شد و در دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد عمل هضم صورت گرفت. جهت تایید دقت و صحت اندازه گیری نمونه‌ها از نمونه مرجع (A certified reference material (BAM-U110) در سه تکرار نیز استفاده شد که این نمونه از کشور آلمان (Federal Institute of Germany for Materials) Research and Testing) خریداری شد. درصد بازیافت نمونه مرجع از ۷۴ درصد برای کروم تا ۱۰۵ درصد برای مس متغیر بود.

جدول ۳-۱: ویژگی‌های خاک اولیه آلوده به هیدروکربن‌های نفتی

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی	
درصد رس	۲۲
درصد سیلت	۲۴
درصد شن	۵۴
pH	۸/۱
هدایت الکتریکی (ds/m)	۰/۳۲
درصد ماده آلی	۲/۹

جدول ۳-۲: میزان عناصر موجود در نمونه خاک اولیه آلوده به هیدروکربن‌های نفتی

عناصر	mg/kg	عناصر	mg/kg
بور (B)	۸/۰۰	مس (Cu)	۱۵/۵۲
منیزیم (Mg)	۹۷۹۴/۳۸	روی (Zn)	۲۹/۲۳
پتاسیم (K)	۱۰۹۹/۳۱	آرسنیک (As)	۳/۵۵
کلسیم (Ca)	۱۴۹۶۵۹/۶۵	سلنیم (Se)	۰/۸۴
کروم (Cr)	۳۹/۷۷	مولیبدین (Mo)	۰/۲۶
منگنز (Mn)	۶۰۱/۶۷	کادمیوم (Cd)	۰/۲۴
آهن (Fe)	۱۲۵۲۵/۶۵	جیوه (Hg)	۰/۰۴
کبالت (Co)	۱۱/۴۳	سرب (Pb)	۲۷۵/۲۴
نیکل (Ni)	۸۷/۴۹		

۲-۳ انتخاب گیاهان برای انجام زیست پالایی

شناسایی و انتخاب گونه‌های گیاهی مقاوم و مستعد احتمالی در حذف آلودگی هیدروکربن‌های نفتی به شرح زیر انجام گرفت:

الف) مطالعات کتابخانه‌ای به منظور شناسایی گونه‌های گیاهی مقاوم و مستعد در حذف آلودگی‌های نفتی از خاک با توجه به پژوهش‌های انجام شده در این زمینه.

ب) مطالعه‌ی مقالات به دست آمده از اینترنت که تحقیقاتی در زمینه‌ی زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی توسط گونه‌های مقاوم و مستعد گیاهی انجام داده بودند.

ج) اطلاعات منتشر شده محققین در زمینه استفاده از گونه‌های گیاهی مقاوم و مستعد و بومی منطقه نظیر علف بره و جارو علفی برای پالایش خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی.

بعد از مطالعات لازم، در نهایت دو گیاه علف بره (*Festuca arundinacea*) و جارو علفی (*Bromus tectorum* L) از خانواده چمن انتخاب شدند. گونه‌های گیاهی انتخاب شده دارای ریشه‌های قوی و سازگاری بالا برای رشد در منطقه مورد مطالعه هستند.

در نهایت پس از انجام مطالعات لازم، بذر دو گیاه مذکور از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد.

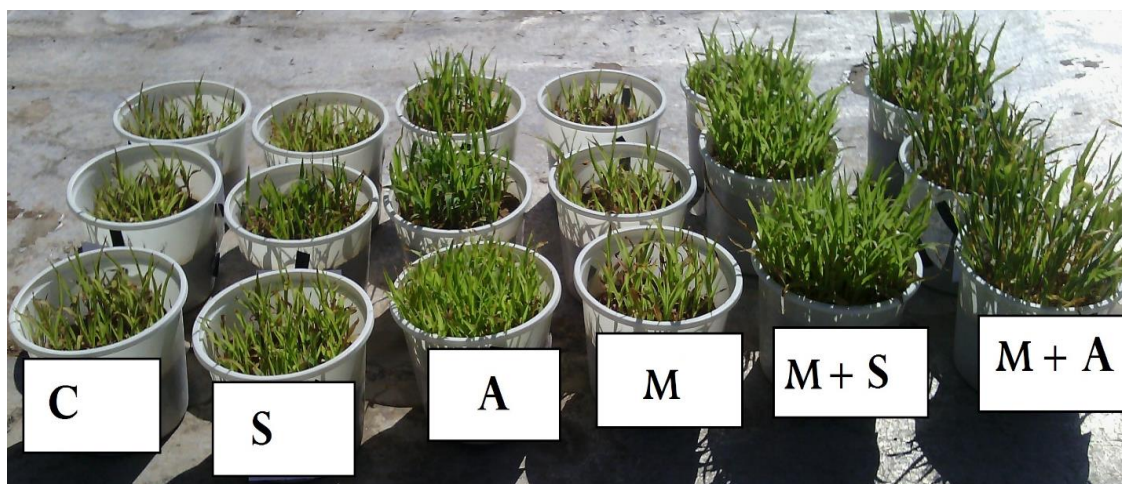
گونه گیاهی بومی از جمله علف بره و جارو علفی و سه اصلاح‌کننده مختلف از جمله محلول غذایی، پودر یونجه و قارچ میکوریزا آربوسکولار برای زیست‌پالایی خاک آلوده به نفت انتخاب شدند.

۳-۳ آزمایش گلخانه‌ای

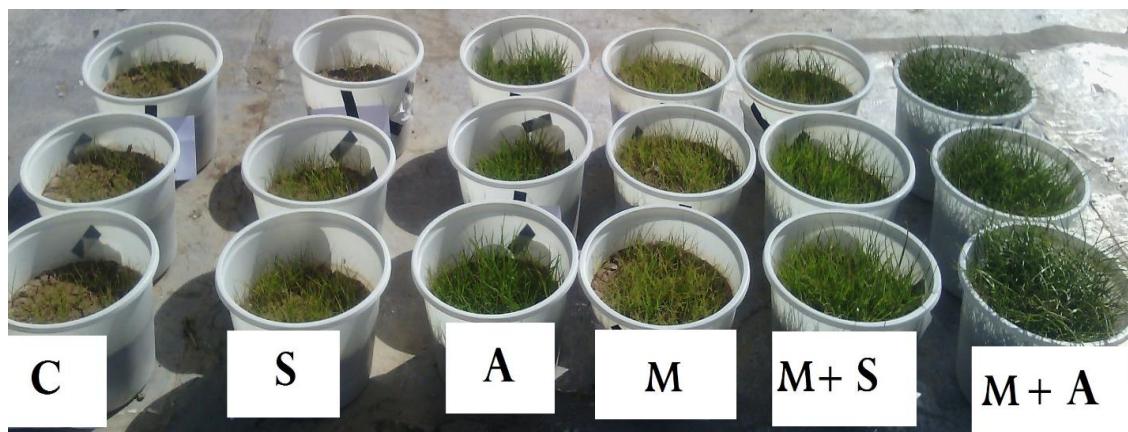
جهت انجام این پژوهش، در ابتدا خاک آلوده به ترکیبات نفتی پس از ۲ روز هوادهی و خشک کردن کوبیده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند. سپس ۳ کیلوگرم خاک در گلدان‌های با قطر ۲۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر ریخته شد. این آزمایش به صورت آزمایش فاکتوریل در غالب طرح کاملاً تصادفی

و با سه تکرار انجام شد. تعداد بذر به کار برده شده در هر گلدان ۲۰ عدد بود که در عمق یک سانتی متری سطح گلدان کشت گردید. گلدان‌ها تحت شرایط محیطی دما و نور کاملاً طبیعی در فضای باز قرار داده شدند. گلدان‌ها هر دو روز یک بار (هر بار ۲۰۰ میلی لیتر) آبیاری شدند. لازم به ذکر است غلظت هیدروکربن‌های خاک آلوده به ترکیبات نفتی پیش از دوره کشت اندازه‌گیری شد که برابر است با ۸۹/۵ گرم در کیلوگرم خاک می‌باشد.

برای زیست بهسازی خاک های آلوده از ۳ اصلاح کننده شامل محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A) و قارچ آربوسکولار میکوریزا (M) به تنهایی و اصلاح کننده‌های ترکیبی شامل قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M+S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M+A) و نمونه های فاقد اصلاح کننده (C) استفاده شد در شکل‌های (۳-۱، ۳-۲ و ۳-۳) به ترتیب تیمارهای گیاه جارو علفی، علف بره و به همراه نمونه فاقد گیاه همراه با تیمارهای اصلاحی مورد مطالعه مشاهده می‌شود.



شکل ۳-۱: گیاه جارو علفی پس از پنج هفته پس از کاشت تحت تیمار با اصلاح کننده‌های مختلف از جمله: نمونه شاهد (C)، محلول‌های غذایی (S)، پودریونجه (A)، قارچ میکوریزا (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M+S) و قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M+A).



شکل ۳-۲: گیاه علف بره پس از پنج هفته پس از کاشت تحت تیمار با اصلاح‌کننده‌های مختلف از جمله: نمونه شاهد (C)، محلول‌های غذایی (S)، پودریونجه (A)، قارچ میکوریزا (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M+S) و قارچ میکوریزا و پودریونجه (M+A).



شکل ۳-۳: نمونه‌های فاقد گیاه پس از پنج هفته تحت تیمار با اصلاح‌کننده‌های مختلف از جمله: نمونه شاهد (C)، محلول‌های غذایی (S)، پودریونجه (A)، قارچ میکوریزا (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M+S) و پودریونجه (M+A).

لازم به ذکر می باشد در تیمارهای دارای قارچ آربوسکولار میکوریزا مقدار ۱۵۰ گرم در گلدان از اینوکلوم قارچ میکوریزا شامل گونه‌های (*Glomus mossea*, *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum*) در ۳ سانتی‌متری بالایی سطح خاک قرار گرفت. در تیمارهای دارای پودریونجه مقدار ۳۰ گرم پودریونجه در هر گلدان با کل خاک آلوده به ترکیبات نفتی هر گلدان مخلوط شد. همچنین در تیمار حاوی محلول غذایی از کودهای K_2HPO_4 , KNO_3 , $MgSO_4$, $Ca(NO_3)_2$, $FeSO_4$ و عناصر میکرو (مولیبدین، مس،

روی، بر و منگنز) با غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر به همراه آب آبیاری پس از یک هفته و با شروع جوانه زنی گیاه جارو علفی و علف بره تا پایان دوره رشد مورد استفاده قرار گرفت.

پس از سپری شدن دوره رشد به مدت ۴۰ روز گیاه جارو علفی و علف بره برداشت شده و اندام هوایی و ریشه هر یک از گلدان‌ها جدا و از هر گلدان نمونه خاک تهیه و برای انجام آزمایشات مورد نظر به آزمایشگاه دانشگاه صنعتی شاهرود منتقل شد.

جهت محاسبه وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه نمونه‌های گیاهی برداشته شده از هر گلدان در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون قرار داده شدند و سپس به وسیله ترازوی دیجیتالی وزن شدند.

هدایت الکتریکی خاک و pH خاک عصاره ۱:۲ آب مقطر و خاک آلوده به ترکیبات نفتی به ترتیب به وسیله دستگاه هدایت سنج و pH متر دیجیتالی قرائت شدند (بگوونیچ و همکاران، ۲۰۱۷).

۳-۴ درصد تشکیل کلونی قارچ آربوسکولار میکورایزا در ریشه

به منظور تعیین درصد کلونیزاسیون قارچ میکوریز در ریشه‌ی گیاه جارو علفی و علف بره، پس از جدا سازی ریشه‌ها از خاک و شستشو، ۱ گرم از ریشه تازه جدا شده و برای تعیین مقدار کلنی میکوریزای تشکیل شده به روش میکروسکوپی در محلول تثبیت کننده فرمالین، اسیداستیک و الکل ۵۰ درصد (نسبت حجمی ۵:۵:۹۰) قرار داده شد. ریشه‌ها پس از رنگ‌زدایی در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد، اسیدی شده و به کمک محلول لاکتو گلیسرول دارای جوهر آبی رنگ آمیزی، شدند (ویهایلگ و همکاران، ۱۹۹۸). پس از رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها در محلول رنگ‌بر برای خروج رنگ اضافی قرار داده شدند و سپس به کمک میکروسکوپ نوری درصد تشکیل هیف و آربوسکول قارچ های میکوریزا تعیین شد (مگانگول و همکاران ۱۹۹۰).

۳-۵ روش اندازه گیری مقدار کل ترکیبات نفتی

جهت استخراج نفت از خاک مقدار ۲ گرم خاک آلوده وزن شد و به آن حدود ۱۰ میلی لیتر حلال دی کلرومتان اضافه شد. مخلوط با دور ۵۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد. سپس مخلوط در دور ۳۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانترفیوژ شد تا خاک آن رسوب نماید. محلول رویی از خاک جدا شد و در ظرف شیشه ای از قبل وزن شده بود ریخته شد. مرحله فوق مجدداً تکرار شد. سپس حلال دی کلرومتان برای مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه تبخیر شده و باقی مانده دوباره وزن شد (مینایی تهرانی و همکاران، ۲۰۰۶).

آزمایش استخراج نفت از خاک برای تمام گلدان های حاوی گیاهان جاروعلفی و علف بره و گلدان های فاقد گیاه انجام شد و وزن هیدروکربن های نفتی موجود در خاک و درصد آلودگی هیدروکربنی خاک محاسبه شد و نقش گیاهان در میزان این کاهش بررسی شد.

۳-۶ روش اندازه گیری مقدار ترکیبات نفتی:

۳-۶-۱ اطلاعات دستگاه

کروماتوگرافی مایع Hewlett-Packard 1090-II (USA، CA، Palo Alto، Agilent) مجهز به یک شناساگر فلورسنت ۱۰۴۶ که برای تعیین ترکیبات نفتی استفاده شد. این سیستم به یک تزریق کننده Rheodyne 7125i که از حلقه ۲۰ میلی لیتر برخوردار است و یک سیستم تصفیه در خط (۵/۰ میکرومتر) مجهز می باشد.

۳-۶-۲ اطلاعات ستون و فاز متحرک به صورت زیر است

ستون: HECTOR-A C-18؛ ۱۵ سانتی متر، ۳ میلی متر، ID، اندازه ذرات ۳ میلی متر فاز متحرک: ۱۰۰٪ آب در pH 2 (اسید سولفوریک)، سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه.

۳-۶-۳ روش آنالیز PAH با دستگاه اچ پی ال سی (HPLC)

نمونه‌های خاک: نمونه‌های خاک مطابق روش E ۳۵۵۰ (استخراج)، EPA ۳۶۳۰ C (تمیز کردن) و D ۸۳۱۰ (تعیین) آنالیز شدند.

۳-۷ طرح مورد استفاده و تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزار statistix8 انجام گرفت. همچنین نرم افزار Excel نیز برای رسم نمودار مورد استفاده قرار گرفت.

فصل چہارم

نتیجہ و بحث

با توجه به اهمیت پالایش خاک های آلوده پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر محلول غذایی و قارچ آربوسکولار میکوریزا بر توان گیاه پالایی خاک آلوده به هیدروکربن های نفتی توسط دو گیاه جارو علفی و علف بره انجام شده است.

۴-۱ هدایت الکتریکی و pH در خاک های اصلاح شده از هیدروکربن های نفتی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر گونه گیاه، اثر نوع اصلاح کننده و اثر متقابل اصلاح کننده و گیاه بر هدایت الکتریکی در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است (جدول ۴-۱).

جدول ۴-۱: تجزیه واریانس اثر گیاه و اصلاح کننده بر هدایت الکتریکی و pH خاک				
ردیف	متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات (هدایت الکتریکی)	میانگین مربعات (pH)
۱	گیاه	۲	۰/۰۲۴**	۱/۴۹۷**
۲	اصلاح کننده	۵	۰/۰۹۷**	۰/۰۴۴**
۳	اصلاح کننده و گیاه	۱۰	۰/۰۰۷**	۰/۰۱۴**
۴	خطا	۳۶	***	۰/۰۰۲

ns و ** و *** به ترتیب به معنی معنی دار بودن نتایج در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اثر معنی دار می باشد

با توجه به (شکل ۴-۱) کاربرد اصلاح کننده ترکیبی قارچ میکوریزا و پودر یونجه در خاک سبب افزایش هدایت الکتریکی خاک شده است. به گونه ای که بالاترین هدایت الکتریکی در اصلاح کننده ترکیبی قارچ میکوریزا و پودر یونجه در تیمار شاهد و ریزوسفر هر دو گیاه مورد مطالعه مشاهده شد. تجزیه مواد آلی موجود در خاک عموماً هدایت الکتریکی را افزایش می دهند، احتمالاً افزایش هدایت الکتریکی در این تیمار نیز به علت وجود مواد معدنی موجود در بقایای گیاهی و آزاد شدن آن ها در اثر تجزیه میکروبی می باشد. یکی دیگر از دلایل افزایش هدایت الکتریکی در اصلاح کننده قارچ میکوریزا و پودر یونجه کاهش pH در تیمار مربوطه است (عباسپور و همکاران، ۲۰۰۷).

قابلیت هدایت الکتریکی در داخل یک محلول با میزان نمک های محلول نسبت مستقیم و با مقاومت الکتریکی نسبت معکوس دارد. افزایش املاح در آب یا خاک به عنوان پارامتر منفی در آنها تلقی می گردد.

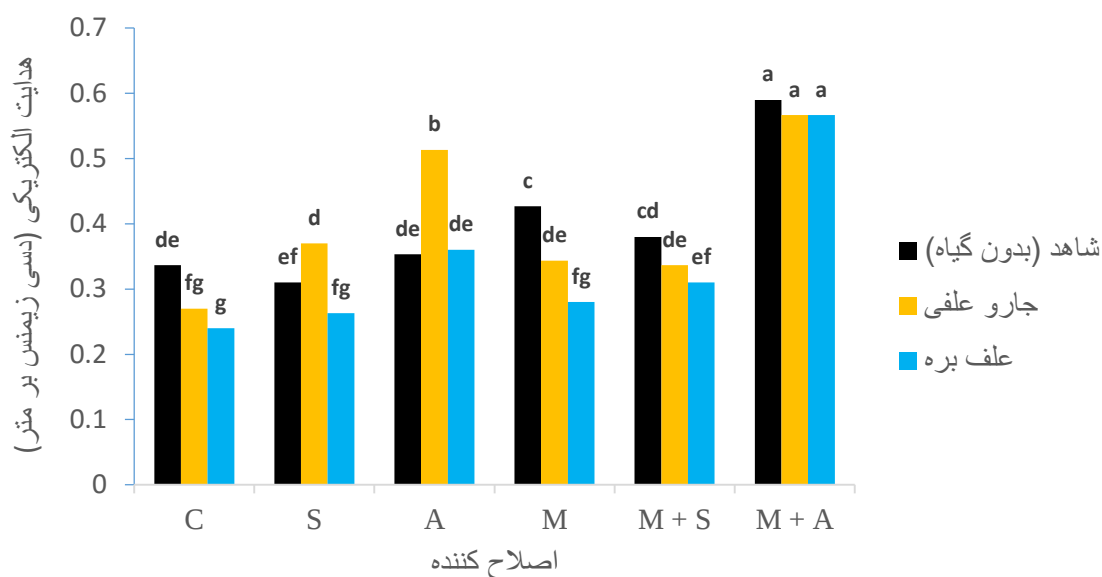
اولین خسارت ناشی از فزونی املاح در خاک موجب افزایش فشار اسمزی ناحیه ریشه می شود و جذب آب توسط ریشه گیاهان را مختل می نماید (الراجی و همکاران، ۲۰۱۷).

با توجه به اینکه حداکثر هدایت الکتریکی نمونه های خاک مورد مطالعه ۰/۵۹ دسی زیمنس بوده و این مقدار کمتر از ۴ دسی زیمنس (حد تعریف شده برای خاک های شور) است، می توان نتیجه گرفت افزودن هیچ یک از اصلاح کننده ها به خاک دارای اثر منفی بر روی رشد گیاه نمی باشند (الراجی و همکاران، ۲۰۱۷).

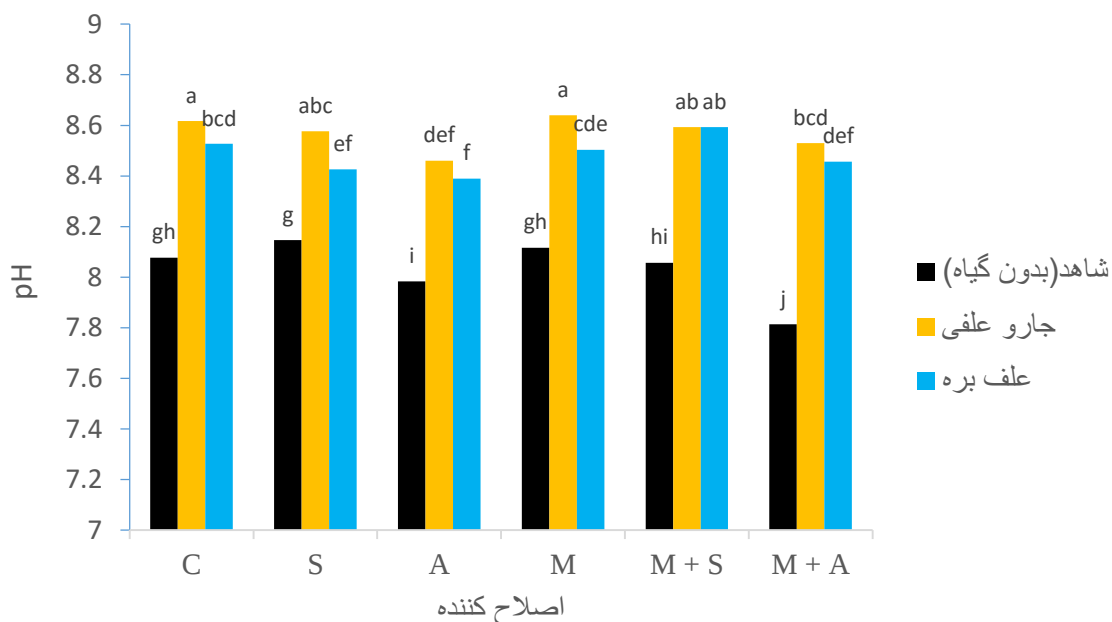
pH خاک به طور مستقیم و یا غیر مستقیم رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می دهد. مهمترین نقش آن در کنترل حلالیت عناصر غذایی در خاک است. به عبارتی دیگر قابلیت جذب عناصر غذایی وابستگی زیادی به این فاکتور خاک دارد (ژائو و همکاران، ۲۰۱۷).

با توجه به (جدول ۴-۱) نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر گیاه، اصلاح کننده و اثر متقابل اصلاح کننده و گیاه بر pH در سطح ۱ درصد معنی دار می باشد.

با توجه به (شکل ۴-۲) کاهش pH گلدان های که اصلاح کننده های آن ها پودر یونجه می باشد ممکن است به علت انتشار اسیدهای آلی در طول فرایند تجزیه باشد. مواد ارگانیکی که به خاک قلیایی افزوده می شوند، معمولاً با افزایش H^+ همراه با آنیون های آلی یا از طریق فرایند نیتریفیکاسیون در یک سیستم باز، می توانند pH را کاهش دهند (عباسپور و همکاران، ۲۰۰۸).



شکل ۴-۱: هدایت الکتریکی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی اصلاح شده تحت تاثیر گیاه و اصلاح کننده‌های مختلف (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۴-۲: pH خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی اصلاح شده تحت تاثیر گیاه و اصلاح کننده‌های مختلف (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار است.

۴-۲ وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی و علف‌بره

باتوجه به (جدول ۴-۲) نتایج تجزیه واریانس اثر اصلاح کننده بر وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی و علف بره در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است.

جدول ۴-۲: تجزیه واریانس وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی و علف بره در خاک های آلوده به ترکیبات نفتی

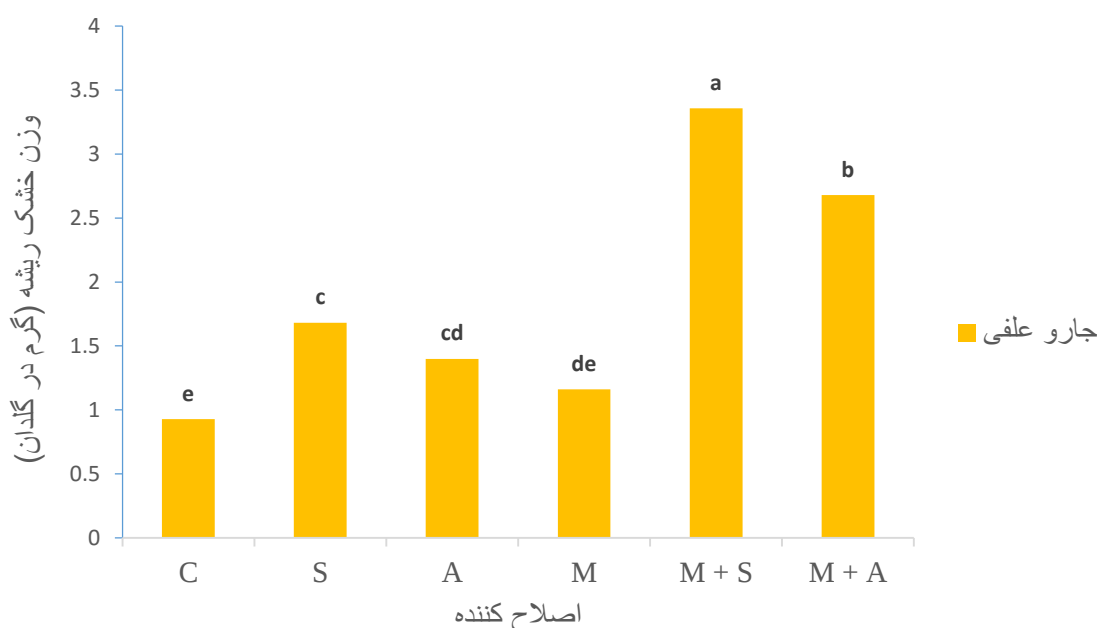
ردیف	متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات (وزن خشک گیاه جارو علفی)	میانگین مربعات (وزن خشک گیاه علف بره)
۱	اصلاح کننده	۵	۲/۵۸ **	۲/۲۱ **
۲	خطا	۱۲	۰/۰۳	۰/۰۳

**, ** و ns به ترتیب به معنی معنی دار بودن نتایج در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اثر معنی دار می باشد

از اولین علائم مسمومیت گیاهان در خاک های آلوده به نفت بازدارندگی رشد است (کومار و همکاران، ۲۰۱۷). خاصیت آبریزی ترکیبات نفتی سبب بازدارندگی و کاهش رشد می شود. خاصیت آبریزی ترکیبات نفتی موجب تغییر رفتار خاک و ناهمگن شدن انتشار آب در خاک می گردد این مسئله موجب کمبود آب در خاک و ایجاد شرایط خشکی در خاک می شود و قابلیت دسترسی گیاهان به آب و مواد مغذی کاهش می یابد (چنگ و همکاران، ۲۰۱۷).

وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی در تمام گلدان های حاوی گیاه و اصلاح کننده نسبت به تیمار فاقد اصلاح کننده افزایش یافته است. افزایش وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی در تیمارهای قارچ میکوریز و محلول غذایی ۲۶۲ درصد، در تیمار اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۱۷۳ درصد در مقایسه با تیمار بدون اصلاح کننده بوده است. همچنین افزایش وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی در مقایسه با تیمار فاقد اصلاح کننده در تیمار محلول غذایی ۸۱ درصد، در تیمار یونجه ۵۰ درصد و در تیمار قارچ میکوریزا ۲۵ درصد بوده است (شکل ۳-۴).

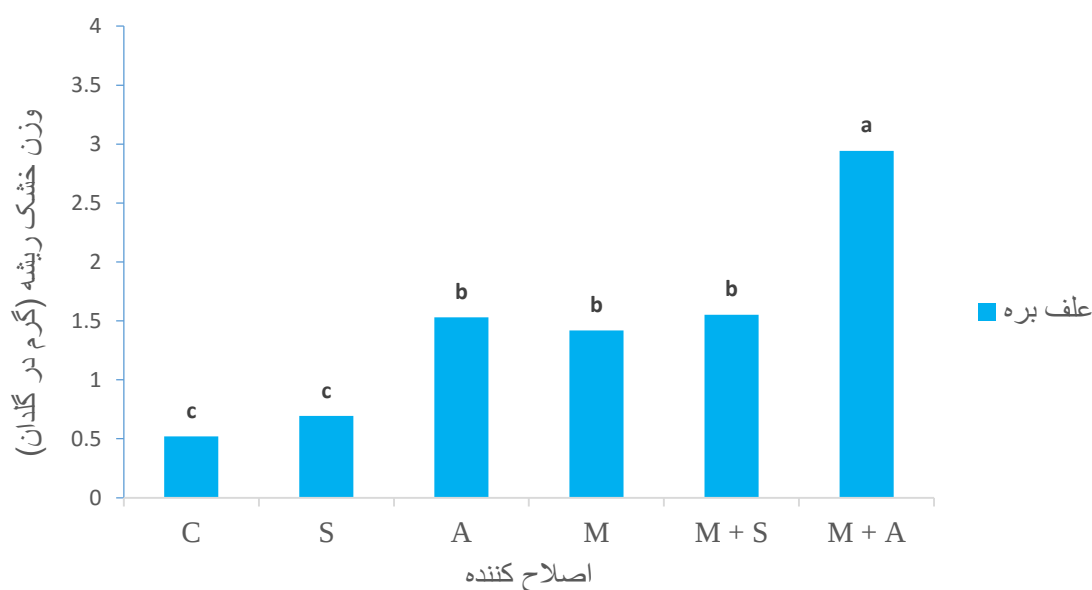
در پژوهش موجود حداکثر وزن خشک ریشه در گیاه جارو علفی مربوط به اصلاح کننده ترکیبی قارچ میکوریزا و محلول غذایی (۳/۳۵۹ گرم در گلدان) و کمترین وزن خشک ریشه مربوط به گیاه جارو علفی در تیمار فاقد اصلاح کننده است (۰/۹۲۷ گرم در گلدان) می باشد.



شکل ۳-۴: وزن خشک ریشه گیاه جارو علفی در خاک های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح کننده های مختلف (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی دار است.

وزن خشک ریشه گیاه علف بره در تمام گلدان های حاوی گیاه و اصلاح کننده نسبت به شاهد فاقد اصلاح کننده افزایش یافته است. افزایش وزن خشک ریشه گیاه علف بره در تیمار قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۴۶۴ درصد، در تیمار قارچ میکوریزا و محلول غذایی ۱۹۷ درصد در مقایسه با تیمار بدون اصلاح کننده بوده است. همچنین وزن خشک ریشه گیاه علف بره در تیمار پودر یونجه ۱۸۵ درصد، در تیمار محلول غذایی ۱۷۲ درصد و در تیمار قارچ میکوریزا ۳۳ درصد نسبت به تیمار فاقد اصلاح کننده افزایش یافته است (شکل ۴-۴).

در پژوهش موجود حداکثر وزن خشک ریشه در گیاه علف بره مربوط به اصلاح کننده ترکیبی قارچ میکوریزا و پودر یونجه (۲/۹۴۳ گرم در گلدان) و کم ترین وزن خشک ریشه مربوط به گیاه علف بره در تیمار فاقد اصلاح کننده است (۰/۵۲۱ گرم در گلدان) می باشد.



شکل ۴-۴: وزن خشک ریشه گیاه علف بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح کننده‌های مختلف (فقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار است.

۴-۳ وزن خشک اندام هوایی گیاه جاروعلفی و علف‌بره

باتوجه به (جدول ۴-۳) نتایج تجزیه واریانس اثر اصلاح کننده بر وزن خشک ریشه گیاه جاروعلفی و علف بره در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است.

جدول ۴-۳: تجزیه واریانس وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه جاروعلفی و علف بره در خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی

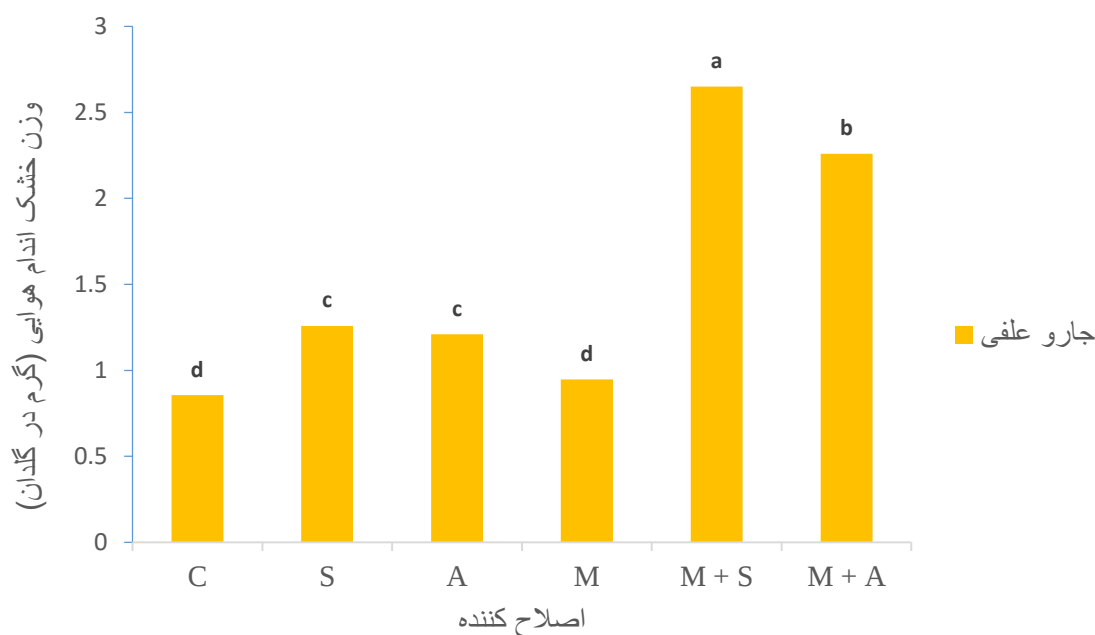
ردیف	متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات (وزن خشک گیاه جاروعلفی)	میانگین مربعات (وزن خشک گیاه علف بره)
۱	اصلاح کننده	۵	۱/۶۵ **	۱/۹ **
۲	خطا	۱۲	۰/۰۲	۰/۰۳

***، ** و ns به ترتیب به معنی معنی‌دار بودن نتایج در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اثر معنی‌دار می‌باشد

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که استفاده از محلول‌های غذایی باعث رشد گیاه می‌شود. افزودن مواد مغذی به خاک می‌تواند به رشد گیاه (افزایش وزن خشک گیاه) و از آن طریق به حذف آلودگی‌های نفتی کمک کند (براتی و همکاران، ۲۰۱۷). کمبود نیتروژن به عنوان یک ماده مغذی معدنی، غالباً فعالیت

میکروبی را در خاک محدود می‌سازد. لذا استفاده از کودهای حاوی نیتروژن به صورت محلول غذایی و یا بقایای غنی از نیتروژن مانند پودر یونجه می‌تواند به رشد بهتر گیاه کمک کند (براتی و همکاران، ۲۰۱۷). با توجه به اینکه یکی از مکانیسم‌های موثر گیاه‌پالایی در حذف آلاینده استخراج گیاهی است، جرم زیست توده گیاه می‌تواند در کارایی گیاه‌پالایی موثر واقع گردد (علوی بختیاروند و همکاران، ۱۳۹۲). وزن خشک اندام هوایی گیاه جاروعلفی در تمام گلدان‌های حاوی گیاه و اصلاح‌کننده نسبت به تیمار فاقد اصلاح‌کننده افزایش یافته است (شکل ۴-۵). افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه جاروعلفی در تیمار قارچ میکوریز و محلول غذایی ۲۰۹ درصد و در تیمار قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۱۶۴ درصد نسبت به تیمار بدون اصلاح‌کننده بوده است. همچنین تیمارهای محلول غذایی، پودر یونجه و قارچ میکوریزا هر کدام به تنهایی سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه جاروعلفی به ترتیب به میزان ۴۷، ۴۱ و ۱۰ درصد نسبت به تیمار بدون اصلاح‌کننده شده‌اند.

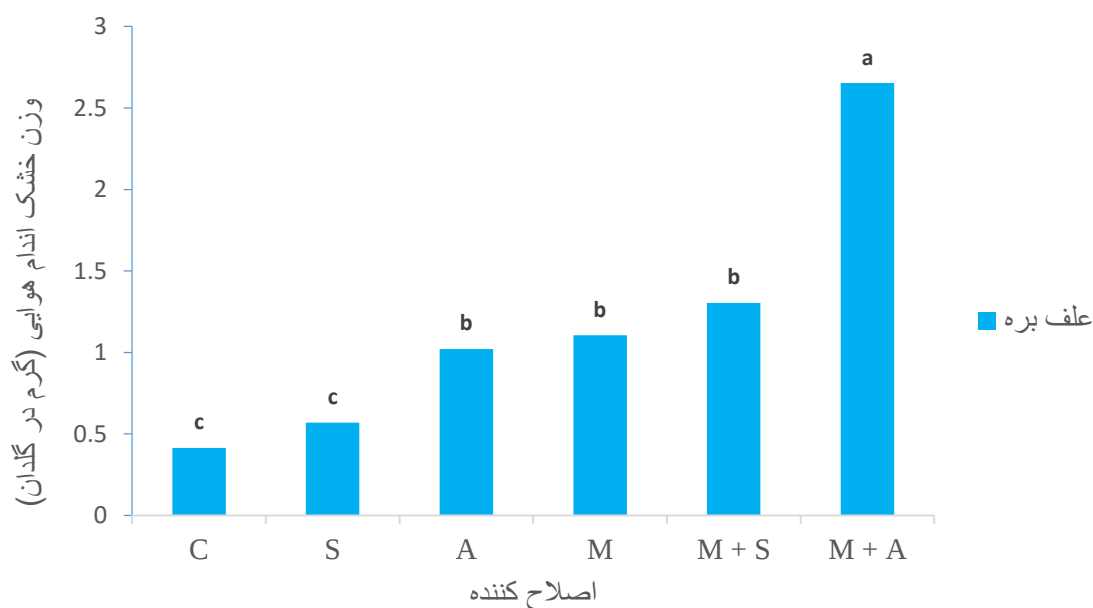
در پژوهش موجود حداکثر وزن خشک اندام هوایی در گیاه جاروعلفی مربوط به اصلاح‌کننده ترکیبی قارچ میکوریزا و محلول غذایی (۲/۶۵ گرم در گلدان) و کم‌ترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به گیاه جاروعلفی در تیمار فاقد اصلاح‌کننده است (۰/۸۵۵ گرم در گلدان) می‌باشد.



شکل ۴-۵: وزن خشک اندام هوایی گیاه جارو علفی در خاک های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح کننده های مختلف (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی دار است

وزن خشک اندام هوایی گیاه علف بره در تمام گلدان های حاوی گیاه و اصلاح کننده نسبت به تیمار بدون اصلاح کننده افزایش یافته است (شکل ۴-۶). افزایش وزن خشک اندام هوایی در این گیاه در تیمار قارچ میکوریز و پودر یونجه ۵۳۹ درصد و در تیمار قارچ میکوریزا و محلول غذایی ۲۲۲ درصد در مقایسه با تیمار بدون اصلاح کننده بوده است. همچنین تیمارهای محلول غذایی، پودر یونجه و قارچ میکوریزا هر کدام به تنهایی سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه علف بره به ترتیب به میزان ۱۴۶، ۱۶۶ و ۱۱ درصد نسبت به تیمار بدون اصلاح کننده شده اند.

در پژوهش موجود حداکثر وزن خشک اندام هوایی در گیاه علف بره مربوط به اصلاح کننده ترکیبی قارچ میکوریزا و پودر یونجه (۲/۶۵۲ گرم در گلدان) و کمترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به گیاه جارو علفی در تیمار فاقد اصلاح کننده است (۰/۴۱۵ گرم در گلدان) می باشد.



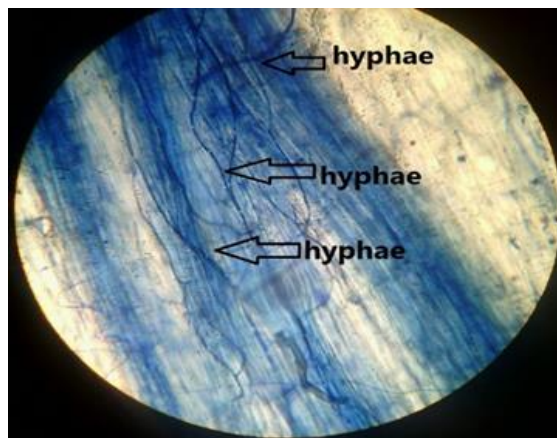
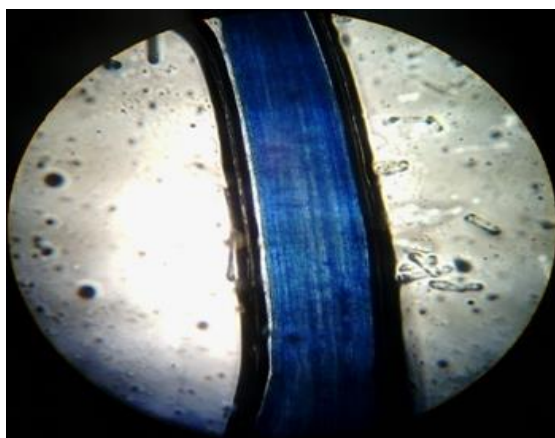
شکل ۴-۶: وزن خشک اندام هوایی علف بره در خاک های آلوده به ترکیبات نفتی همراه با اصلاح کننده های مختلف (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی دار است

همان طور که مشاهده می شود کاربرد همزمان دو اصلاح کننده محلول غذایی و پودر یونجه به صورت همزمان با قارچ میکوریزا تأثیر بیش تری بر وزن خشک اندام هوایی گیاه داشته است (شکل ۴-۳، ۴-۴، ۴-۵ و ۴-۶). قارچ های میکوریزا باعث افزایش توانایی گیاه در جذب عناصر غذایی و آب و در نتیجه سبب افزایش بیومس خشک اندام هوایی و ریشه در خاک به ویژه در شرایط خاک های آلوده می شود. همچنین این قارچ ها با تغییر در ترشحات ریشه سبب تحریک فعالیت میکروبی شده و در نتیجه با تخریب بیشتر آلودگی های نفتی در خاک باعث بهبود شرایط رشد گیاه می شود (هرناندز- ارتیگا و همکاران، ۲۰۱۲؛ لی و همکاران، ۲۰۱۱؛ تانگ و همکاران، ۲۰۰۹؛ یو و همکاران، ۲۰۱۱).

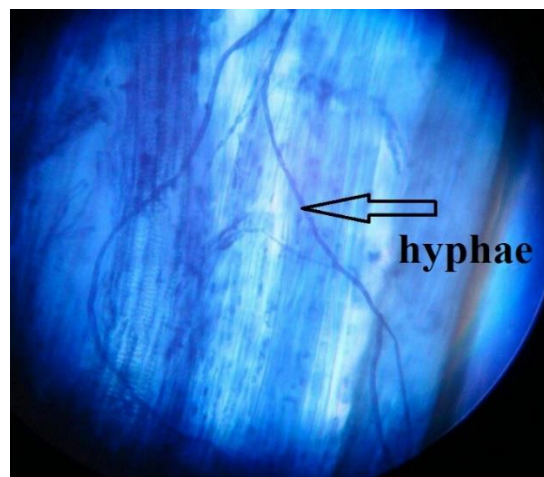
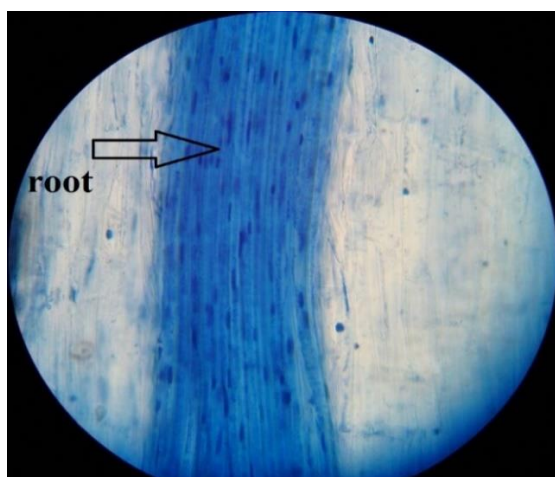
علوی بختیاروند و همکاران (۱۳۹۲) طی یک پژوهش به این نتیجه رسیدند که وزن خشک گیاه در گیاه پالایی خاک های آلوده به نفت در صورت استفاده از مواد مغذی بیشتر خواهد بود که این امر توانایی گیاه برای پالایش خاک را افزایش می دهد.

۴-۴ مطالعات میکروسکپی ریشه گیاهان جaro علفی و علف بره

نتایج بررسی میکروسکوپی ریشه نشان داد که هر دو گیاه مورد مطالعه توان برقراری همزیستی با قارچ آربوسکولار میکوریزا را داشته‌اند (شکل ۷-۴ و ۸-۴). با توجه به (جدول ۴-۴) نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلاح‌کننده و اثر متقابل اصلاح‌کننده و گیاه بر درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه جارو علفی و علف بره در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۴-۴).



شکل ۷-۴: هیف قارچ آربوسکولار میکوریزا در ریشه گیاه جارو علفی. تصویر سمت راست ریشه گیاه جارو علفی به همراه اصلاح‌کننده قارچ میکوریز و محلول غذایی و تصویر سمت چپ ریشه گیاه جارو علفی فاقد اصلاح‌کننده در خاک آلوده به ترکیبات نفتی می‌باشد.



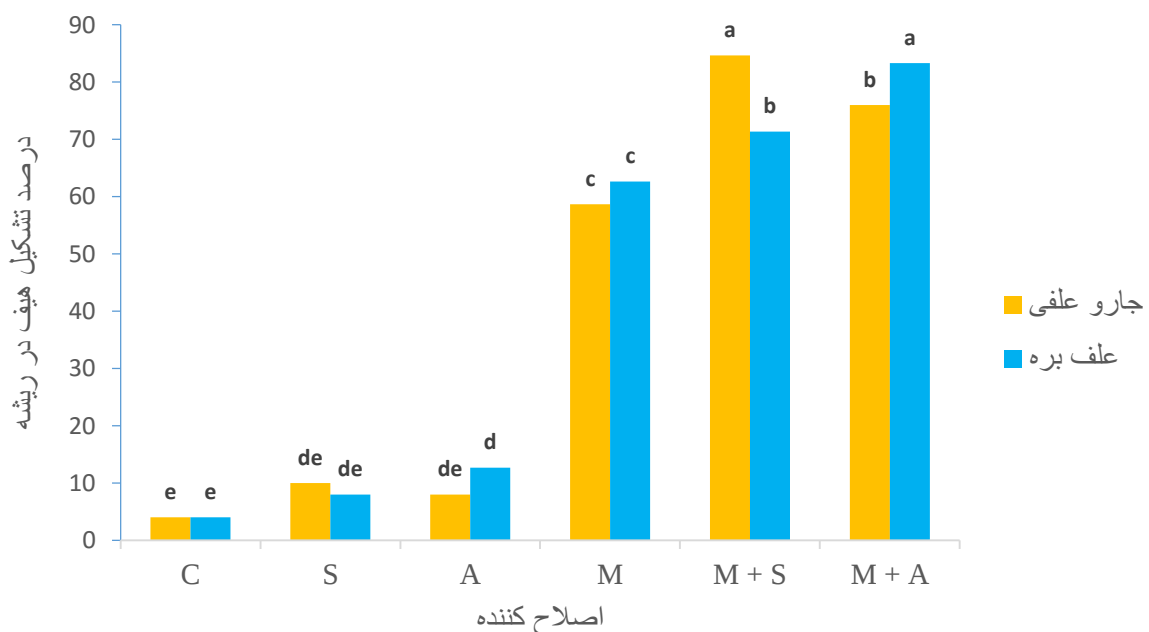
شکل ۸-۴: هیف قارچ آربوسکولار میکوریزا در ریشه گیاه علف بره. تصویر سمت راست ریشه گیاه علف بره و اصلاح‌کننده قارچ میکوریز و پودر یونجه و تصویر سمت چپ ریشه گیاه علف بره فاقد اصلاح‌کننده در خاک آلوده به ترکیبات نفتی می‌باشد.

جدول ۴-۴: تجزیه واریانس درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه جارو علفی و علف بره

ردیف	متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات (درصد تشکیل هیف در ریشه)
۱	گیاه	۱	۰/۱۱ ^{ns}
۲	اصلاح کننده	۵	۷۸۹۷/۴۴ ^{**}
۳	اصلاح کننده و گیاه	۵	۸۱/۹۸ ^{**}
۴	خطا	۲۴	۱۵/۶۸

ns و ** به ترتیب به معنی معنی دار بودن نتایج در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اثر معنی دار می باشد

درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه جارو علفی در تیمار های محلول غذایی، پودر یونجه و تیمار بدون اصلاح کننده به ترتیب ۱۰، ۸ و ۴ درصد بوده است. درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه علف بره در تیمار های محلول غذایی، پودر یونجه و تیمار بدون اصلاح کننده به ترتیب ۸، ۱۲ و ۴ درصد بوده است. این درصد کم تشکیل هیف در این تیمارها ناشی از وجود اسپور قارچ های بومی خاک است.



شکل ۴-۹: درصد تشکیل هیف قارچ آربوسکولار میکوریزا در ریشه گیاه جارو علفی و علف بره در خاک های آلوده به ترکیبات نفتی (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی دار است.

با توجه به شکل (۴-۹) درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه جارو علفی تحت تاثیر اصلاح کننده های مختلف از جمله قارچ میکوریزا و محلول غذایی ۸۴ درصد، در تیمار قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۷۶ درصد و در

تیمار قارچ میکوریزا ۵۸ درصد بوده است. همچنین درصد تشکیل هیف در ریشه گیاه علف بره تحت تاثیر اصلاح کننده های مختلف از جمله قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۸۳ درصد، قارچ میکوریزا و محلول غذایی ۷۳ درصد و قارچ میکوریزا ۶۶ درصد بوده است (شکل ۴-۹).

درصد تشکیل هیف در گیاه جارو علفی تحت تاثیر اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و محلول غذایی و در ریشه گیاه علف بره تحت تاثیر اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه به طور معنی داری بیشتر از کاربرد قارچ میکوریزا به تنهایی در هر دو گیاه مورد مطالعه می باشد که نشان دهنده کمبود شدید عناصر غذایی در خاک اولیه و تاثیر مثبت فراهمی عناصر غذایی در تیمارهای حاوی پودر یونجه و محلول غذایی در تشکیل کلنی قارچ میکوریزا در ریشه گیاهان مورد استفاده می باشد. به نظر می رسد بهبود شرایط رشد گیاه در حضور محلول غذایی و پودر یونجه سبب توسعه ریشه و پدید آمدن سطح مؤثر بیشتر برای تشکیل همزیستی بین قارچ و گیاه شده است.

۵-۴ غلظت ترکیبات نفتی کل

باتوجه به (جدول ۴-۵) نتایج تجزیه واریانس اثر گیاه، اصلاح کننده و اثر متقابل اصلاح کننده و گیاه بر میزان گیاه پالایی ترکیبات نفتی خاک های آلوده توسط گیاه جارو علفی و علف بره در سطح ۱ درصد معنی دار می باشد.

جدول ۴-۵: تجزیه واریانس میزان ترکیبات نفتی خاک های گیاه پالایی شده توسط دو گیاه جارو علفی و علف بره

ردیف	متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات (میزان ترکیبات نفت)
۱	گیاه	۲	۴۵۸۸۷ **
۲	اصلاح کننده	۵	۲۰۱۹۶ **
۳	اصلاح کننده و گیاه	۱۰	۵۳۱۰ **
۴	خطا	۳۶	۱۲۲۶

*, **, ns به ترتیب به معنی معنی دار بودن نتایج در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اثر معنی دار می باشد

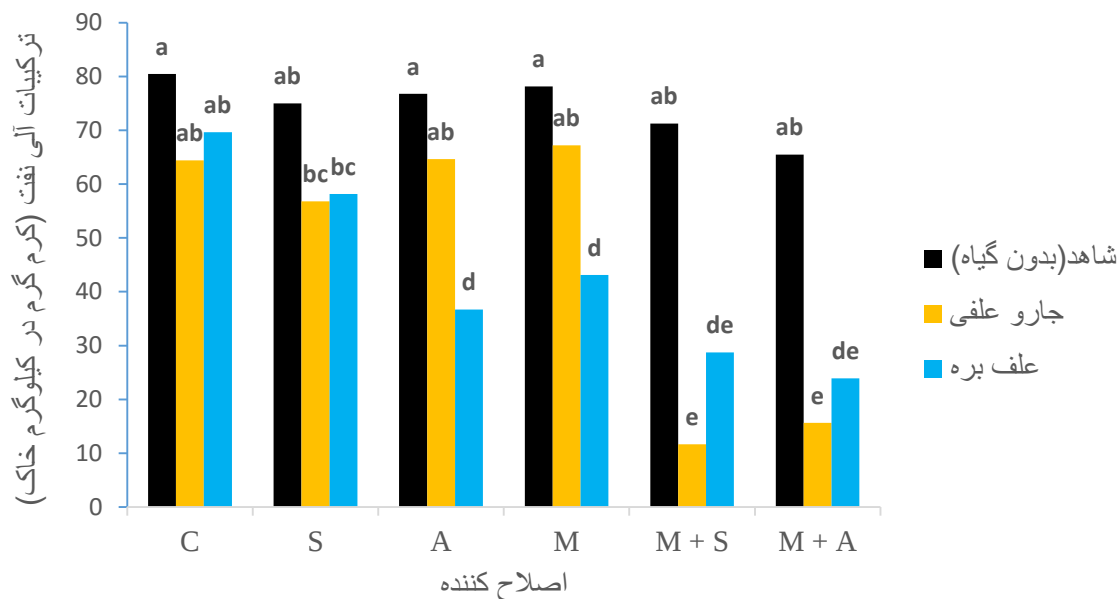
مقایسه غلظت کل هیدروکربن های نفتی در نمونه های دارای گیاه جارو علفی به همراه اصلاح کننده های مختلف نسبت به نمونه اولیه خاک آلوده به هیدروکربن های نفتی (۸۹/۵ گرم بر کیلوگرم خاک) نشان داد

که کشت این گیاه توانسته غلظت هیدروکربن‌های نفتی را به صورت چشمگیری کاهش دهد. کاهش هیدروکربن‌های نفتی در گیاه جارو علفی تحت تاثیر اصلاح‌کننده‌های مختلف از جمله قارچ میکوریزا و محلول غذایی ۸۹ درصد و قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۸۳ درصد در مقایسه با نمونه خاک اولیه بوده است. همچنین تیمار محلول غذایی به میزان ۳۷ درصد، پودر یونجه به میزان ۲۸ درصد و قارچ میکوریزا به میزان ۲۵ درصد باعث کاهش غلظت هیدروکربن‌ها نسبت به خاک اولیه شده است. همچنین کشت گیاه جارو علفی در تیمار بدون اصلاح‌کننده سبب کاهش ۲۸ درصد غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک نسبت به نمونه خاک اولیه آلوده شده است.

با توجه به (شکل ۴-۱۰) مقایسه کاهش هیدروکربن‌های نفتی در نمونه‌های دارای گیاه و فاقد گیاه نشان داد که حضور گیاه توانسته است در تجزیه زیستی نفت موثر باشد. حضور گیاه جارو علفی نقش مثبتی در کاهش کل هیدروکربن‌های نفتی نسبت به گلدان‌های فاقد گیاه در همه تیمارهای اصلاحی مورد مطالعه داشته است. با این وجود این کاهش تنها در تیمار ترکیبی قارچ میکوریزا با هر یک از دو اصلاح‌کننده پودر یونجه و محلول غذایی (به ترتیب ۸۰/۵ و ۸۵/۵ درصد) در مقایسه با تیمار شاهد بدون گیاه بوده است (شکل ۴-۱۰).

در تیمارهای کشت گیاه جارو علفی کاربرد اصلاح‌کننده‌های مختلف سبب کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی نسبت به تیمار بدون اصلاح‌کننده شده است. این کاهش تنها در تیمار ترکیبی قارچ میکوریزا با دو اصلاح‌کننده پودر یونجه و محلول غذایی (به ترتیب ۷۵/۷۷ و ۸۲ درصد) معنی‌دار بوده است. با وجود عدم اثر معنی‌دار دو اصلاح‌کننده پودر یونجه و محلول غذایی اثر معنی‌داری در کاهش غلظت این ترکیبات نسبت به تیمارهای فاقد اصلاح‌کننده نداشته است، اما کاربرد همزمان قارچ میکوریزا با هر یک از این دو ترکیب سبب کاهش معنی‌دار غلظت این ترکیبات در مقایسه با تیمار بدون مواد اصلاحی شده است (شکل ۴-۱۰). این امر می‌تواند به علت اثر مثبت قارچ میکوریزا در افزایش رشد گیاه و گسترش ریشه آن و در نتیجه تأثیر بیش‌تر آن بر تخریب ترکیبات نفتی باشد (شاکر کوهی، ۲۰۱۴).

به علاوه کاربرد همزمان تیمار قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به تیمار محلول غذایی به تنهایی سبب کاهش ۷۹/۵ درصدی غلظت ترکیبات نفتی در خاک شده است. همچنین تیمار قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به تیمار پودریونجه به تنهایی سبب کاهش ۷۶ درصدی این ترکیبات شده است (شکل ۱۰-۴).



شکل ۴-۱۰: میزان ترکیبات نفتی خاک‌های گیاه‌پالایی شده توسط دو گیاه جارو علفی و علف بره تحت تاثیر گیاه و اصلاح کننده‌های مختلف (فاقد اصلاح کننده (C)، محلول غذایی (S)، پودر یونجه (A)، قارچ میکوریزا آربوسکولار (M)، قارچ میکوریزا و محلول غذایی (M + S)، قارچ میکوریزا و پودر یونجه (M + A)). حروف مشترک به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار است.

مقایسه غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در گلدان‌های حاوی گیاه علف بره به همراه اصلاح کننده‌های مختلف نسبت به نمونه اولیه خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (۸۹/۵ گرم بر کیلوگرم خاک) نشان داد که کشت این گیاه توانسته غلظت هیدروکربن‌های نفتی را به صورت چشمگیری کاهش دهد. کاهش هیدروکربن‌های نفتی در گیاه علف بره تحت تاثیر اصلاح کننده‌های مختلف از جمله قارچ میکوریزا و محلول غذایی ۶۷ درصد و در تیمار قارچ میکوریزا و پودر یونجه ۷۳ درصد در مقایسه با نمونه خاک اولیه بوده است. همچنین تیمار محلول غذایی به میزان ۳۵ درصد، پودر یونجه به میزان ۶۰ درصد و قارچ میکوریزا به میزان ۵۰ درصد باعث کاهش غلظت هیدروکربن‌ها نسبت به خاک اولیه شده است. همچنین

کشت گیاه علف بره در تیمار بدون اصلاح کننده سبب کاهش ۲۲ درصد غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک نسبت به نمونه خاک اولیه آلوده شده است.

با توجه به (شکل ۴-۱۰) مقایسه کاهش هیدروکربن‌های نفتی در نمونه‌های دارای گیاه و فاقد گیاه نشان داد که حضور گیاه توانسته است در تجزیه زیستی نفت موثر باشد. حضور گیاه علف بره اثر معنی‌داری در کاهش کل هیدروکربن‌های نفتی نسبت به نمونه‌های فاقد گیاه در همه تیمارهای اصلاحی مورد مطالعه داشته است. افزودن اصلاح کننده‌های مختلف تأثیر گیاه در تخریب هیدروکربن‌های نفتی را تحت تأثیر قرار داده است. به گونه‌ای که بیشترین تخریب در تیمارهای ترکیبی قارچ میکوریزا با سایر اصلاح کننده‌ها مشاهده شده است. کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در تیمار ترکیبی قارچ میکوریزا با اصلاح کننده پودر یونجه ۶۳/۵ درصد و در تیمار ترکیب این قارچ با محلول غذایی ۶۰ درصد بوده است. همچنین تأثیر افزودن پودر یونجه و قارچ میکوریزا هر کدام به تنهایی در تیمارهای کشت علف بره بر کاهش غلظت هیدروکربن‌ها معنی‌دار بوده و این تیمارها به ترتیب سبب کاهش ۵۲ و ۴۴ درصدی این ترکیبات در مقایسه با تیمار شاهد بدون گیاه بوده است (شکل ۴-۱۰).

در تیمارهای کشت گیاه علف بره کاربرد اصلاح کننده‌های مختلف سبب کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی نسبت به تیمار بدون اصلاح کننده شده است. این کاهش تنها در تیمار ترکیبی قارچ میکوریزا با دو اصلاح کننده پودر یونجه و محلول غذایی (به ترتیب ۶۳ و ۵۵ درصد) معنی‌دار بوده است. همچنین در تیمارهای مربوط به این گیاه تأثیر پودر یونجه و قارچ میکوریزا نیز به تنهایی بر کاهش غلظت ترکیبات نفتی معنی‌دار بوده است (جدول ۴-۱۰).

به علاوه در تیمارهای مربوط به کشت علف بره کاربرد همزمان تیمار قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به تیمار محلول غذایی به تنهایی سبب کاهش ۵۰ درصدی غلظت ترکیبات نفتی در خاک شده است. همچنین تیمار قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به تیمار پودر یونجه به تنهایی سبب کاهش ۴۴ درصدی این ترکیبات شده است (شکل ۴-۱۰).

پژوهشگران مختلفی نشان دادند که گیاهان دارای اثرات مثبتی در کاهش هیدروکربن‌های نفتی در خاک هستند (براگواه و سریوواستاو، ۲۰۱۴؛ کایریکارا و ریدی، ۲۰۱۵؛ لنوار و همکاران، ۲۰۱۶؛ کریستالدی و همکاران، ۲۰۱۷، گائو و همکاران، ۲۰۱۵). نتایج پژوهش حاضر نیز به تأثیر مثبت گیاهان جارو علفی و علف بره در کاهش هیدروکربن‌های نفتی را در خاک اشاره میکند. در زیست پالایی گیاهی همکاری میان ریشه گیاهان و ریزجانداران خاک به تجزیه آلاینده‌های آلی پایدار کمک می‌کند. حذف ترکیبات نفتی از خاک در زیست پالایی گیاهی، غالباً به ریزجاندارانی که در ریزوسفر تحت تأثیر ریشه گیاه زندگی می‌کنند نسبت داده می‌شوند (موحان و همکاران، ۲۰۱۳). در واقع گیاهان می‌توانند با انتقال بیشتر اکسیژن به ریزوسفر از طریق کانال‌های عبوری ریشه در خاک‌های آلوده و بهبود خاکدانه‌سازی امکان تجزیه و تخریب بیشتر آلاینده‌های نفتی در خاک توسط فعالیت ریزجانداران را افزایش دهند (حال و همکاران، ۲۰۱۱).

اوریزو و همکاران (۲۰۱۳) طی یک پژوهش برای اصلاح خاک‌های آلوده به پیرین با استفاده از دو گونه گیاهی (یونجه و چچم) نشان دادند که متوسط میزان حذف پیرین در خاک کشت شده با گیاهان ۳۰ درصد بوده، در حالی که در خاک شاهد (بدون گیاه) تنها ۱۸ درصد حذف شده است.

خطیبی و همکاران (۱۳۸۸) نیز در تحقیق خود بر روی ۳ گیاه یونجه، چمن و شبدر سفید نشان دادند که بیشترین میزان کاهش در کل غلظت‌های هیدروکربن نفتی (TPH) در تیمارهای گیاه یونجه و چمن به ویژه در بیشترین سطح تراکم آن‌ها مربوط بود است. این گیاهان در بیشترین سطح تراکم خود غلظت TPH را نسبت به غلظت اولیه‌ی کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک به ترتیب ۶۴/۴ و ۶۰/۳۶ درصد کاهش دادند.

هان و همکاران (۲۰۱۶) طی یک پژوهش جهت اصلاح خاک آلوده به نفت از گیاه لولیوم از زیرخانواده بولگراس و خانواده گیاهان علفی استفاده نمودند. نتایج نشان داد کاشت گیاه لولیوم در خاک آلوده می‌تواند فعالیت جمعیت میکروبی را در خاک آلوده افزایش دهد و میزان هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای را به میزان ۳۰/۳۴ درصد نسبت به گلدان فاقد گیاه کاهش دهد.

ژانگ و همکاران (۲۰۱۰) با انجام یک پژوهش به منظور اصلاح خاک‌های آلوده به نفت خام با گیاه سورگورم، میزان کاهش ترکیبات نفتی بعد گذشت ۱۲۷ روز در خاک کشت شده با گیاه را ۶۷/۴ درصد نسبت به خاک بدون گیاه گزارش نمودند. عابدی کوپایی و همکاران (۲۰۱۳) جهت اصلاح خاک‌های آلوده به نفت از گیاه لولیم به منظور بررسی روند زوال درصد ترکیبات نفتی استفاده نمودند. نتایج آزمایش‌های گیاه‌پالایی با استفاده از گیاه لولیم ۶۵ درصد کاهش ترکیبات نفتی را طی مدت ۱۷ هفته نشان داد.

تأثیر مثبت قارچ‌های میکوریزا بر روند پالایش خاک آلوده در این پژوهش قابل مشاهده است. این قارچ‌ها در گیاه‌پالایی به واسطه بهبود و تسریع رشد گیاه در خاک‌های آلوده و افزایش نسبت تجزیه آلاینده‌ها دارای اهمیت هستند (لو و همکاران، ۲۰۱۴). این قارچ‌ها قادرند در شرایط تنش محیطی های آلوده قادرند برخی مواد مغذی لازم برای رشد گیاه را به صورت محلول در آورده و در اختیار گیاه قراردهند (لو و لو، ۲۰۱۵). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که قارچ میکوریزا نقش خود را در افزایش تجزیه آلاینده‌های آلی از طریق شرایط مناسب برای فعالیت ریزجانداران بواسطه افزایش حجم ریشه در ناحیه ریزوسفر ایفا نموده است. بنابراین می‌توان گفت با توجه به رشد کم و پایین گیاهان مختلف در خاک‌های آلوده به دلیل سمیت این آلاینده‌ها، کاربرد قارچ میکوریزا در زمان کشت گیاه در این خاک‌ها به دلیل بهبود شرایط خاک برای رشد گیاه و فعالیت ریزجانداران آن می‌تواند مفید باشد (شکل ۴-۸). جمعیت ریزجانداران خاک در حضور گیاه و سیستم ریشه‌ای مناسب آن نسبت به خاک‌های فاقد گیاه متنوع‌تر و فعال‌تر می‌باشند (مولر و شان، ۲۰۰۶). ریزجانداران در ریزوسفر از ترشحات ریشه سود می‌برند و گیاهان نیز از سمیت زدایی متابولیکی از ترکیبات بالقوه سمی، توسط جمعیت میکروبی بهره‌مند می‌گردند ((تانگ و همکاران، ۲۰۱۰؛ ژانگ و همکاران).

تحقیقات سایر پژوهشگران نیز نشان می‌دهد که تخریب خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی با گونه‌های مختلف گیاهی (یونجه، شبدر سفید، علف بره نی مانند) به همراه قارچ میکوریزا بیشتر است (تانگ و همکاران، ۲۰۱۰؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰؛ لو و همکاران، ۲۰۱۴؛ لو و لو، ۲۰۱۵). پژوهشگران

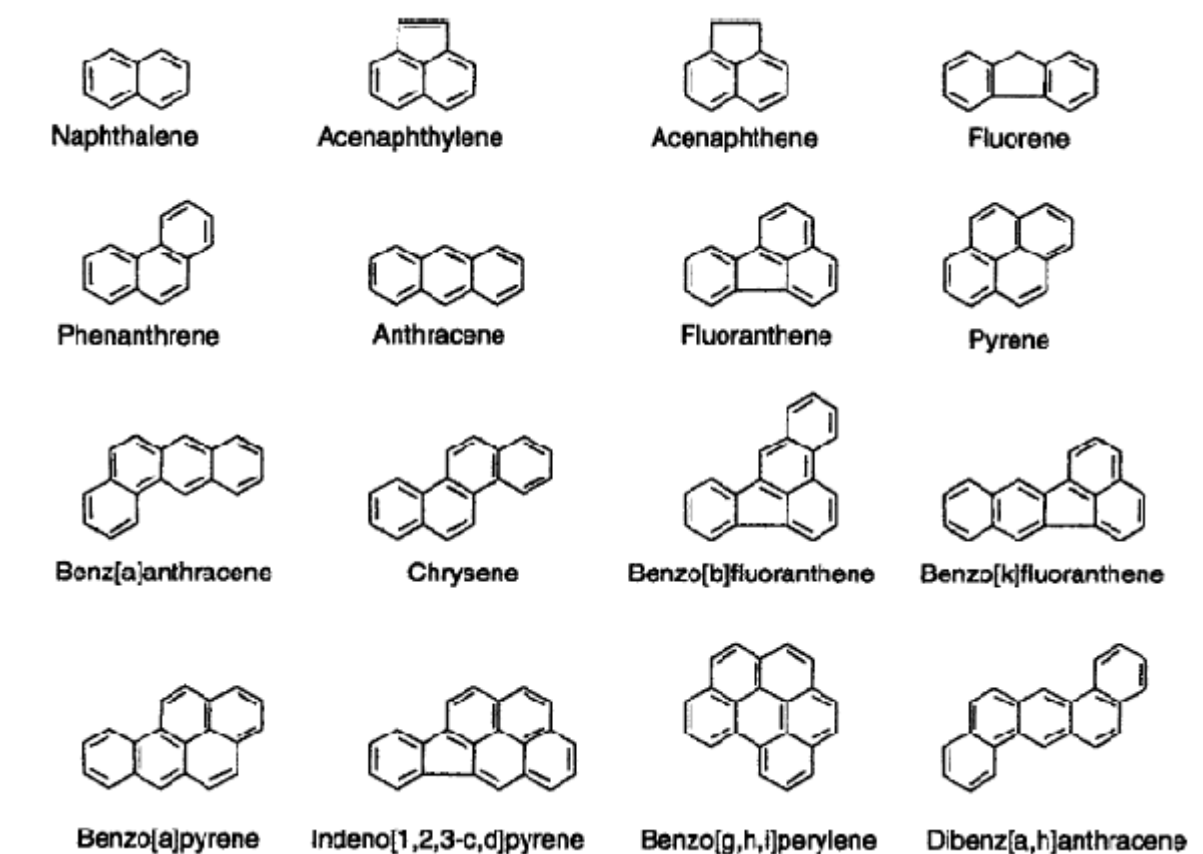
دیگری نیز گزارش دادند که قارچ میکوریزا می‌تواند فعالیت‌های آنزیم‌های خاکی مانند دی هیدروژناز، پراکسیداز، کاتالاز را در خاک‌های آلوده به نفت افزایش دهد (داوامانی و همکاران، ۲۰۱۰؛ یو و همکاران، ۲۰۱۱؛ سیائو و همکاران، ۲۰۱۲).

۴-۶ میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای

یکی از شایع‌ترین آلاینده‌های محیط زیست در گروه ترکیبات آلی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) می‌باشد. آلودگی هوا، خاک، آب‌های سطحی و زیرزمینی و محیط‌های دریایی توسط ترکیبات PAH به طور وسیعی گزارش شده است (سنرازو و همکاران، ۲۰۱۷). هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) از بیشترین آلاینده‌های ارگانیکی هستند که بعد از هر نشت نفتی برای مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند و عمدتاً از گروه ترکیبات آب‌گریز می‌باشند که از ۲ تا ۷ حلقه تشکیل یافته‌اند. از میان آن‌ها ۱۶ ترکیب PAH که از ۲ تا ۶ حلقه تشکیل شده‌اند به دلایل عدم تجزیه بیولوژیکی سریع توسط میکروارگانیسم‌های بومی و در نتیجه ایجاد سمیت و خطر در محیط زیست بیشتر مطرح بوده و به عنوان شاخص آلودگی مطرح می‌باشند (بیاش و همکاران، ۲۰۱۷). تحقیقات علمی جدید نشان می‌دهد که میزان سمی بودن این آلاینده‌ها بسیار بالاست. بر همین اساس آثار مختلفی را بر روی گیاهان، حیوانات و انسان برجا می‌گذارند. ۱۶ ترکیب این آلاینده‌ها از سوی آژانس بین‌المللی حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA) جزء ترکیبات سرطان‌زا معرفی شدند (بیاش و همکاران، ۲۰۱۷).

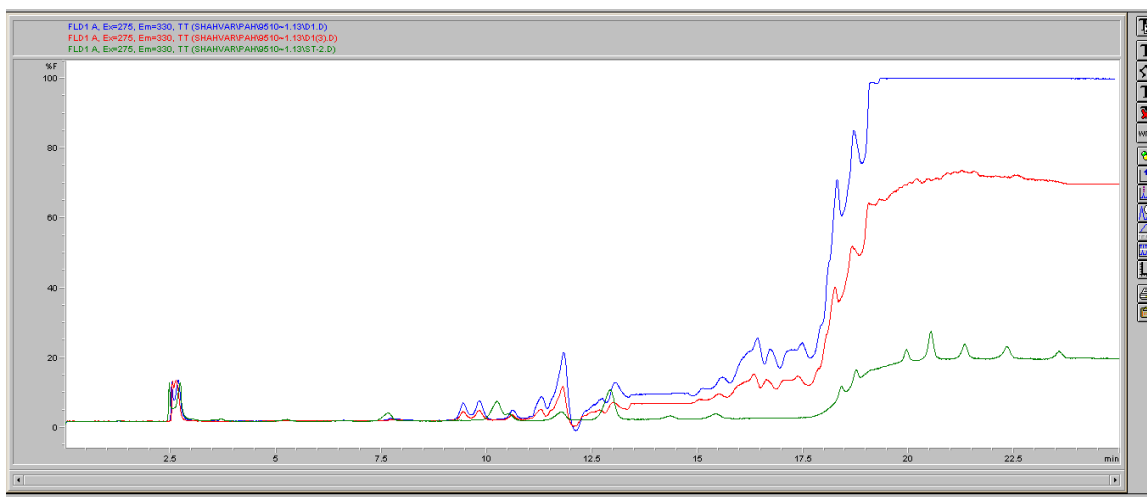
در این پژوهش تجزیه ۱۶ ترکیب از ترکیبات PAHs با ۲ – ۶ حلقه شامل نفتالن (۲ حلقه‌ای)، آسفتیلن، آسفتن، فلورن، فنانترن، آنتراسن (۳ حلقه‌ای)، فلورانتن، پیرین، بنزو (a) آنتراسن، کرایسن (۴ حلقه‌ای)، بنزو (b) فلورانتن، بنزو (k) فلورانتن، بنزو (a) پیرین، دی‌بنزو (ah) آنتروسن (۵ حلقه‌ای) و بنزو (ghi) پرلین و ایندنو (cd-۱،۲،۳) (۶ حلقه‌ای) (شکل ۴-۱۱) توسط دو گیاه جارو علفی و علف بره تحت تاثیر اصلاح‌کننده‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. به منظور سهولت بررسی تغییرات در ترکیبات آروماتیک، این ترکیبات را بر اساس تعداد کربن به ۵ دسته به ترتیب زیر تقسیم‌بندی می‌کنیم.

C10 – C12, C13 – C15, C16 – C18, C19 – C21, C22 <

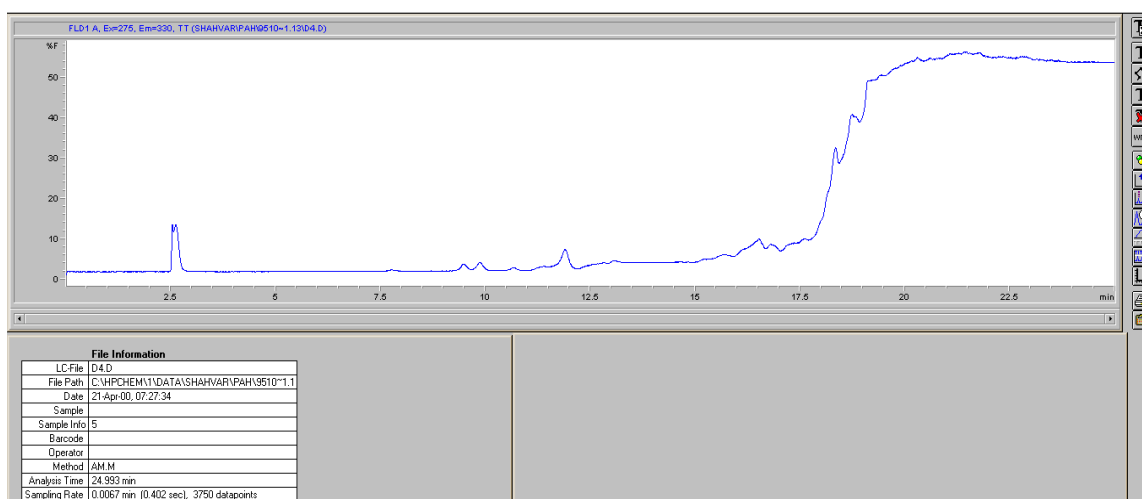


شکل ۴-۱۱: مشخصات ساختاری ۱۶ ترکیب هیدروکربن‌های آروماتیک

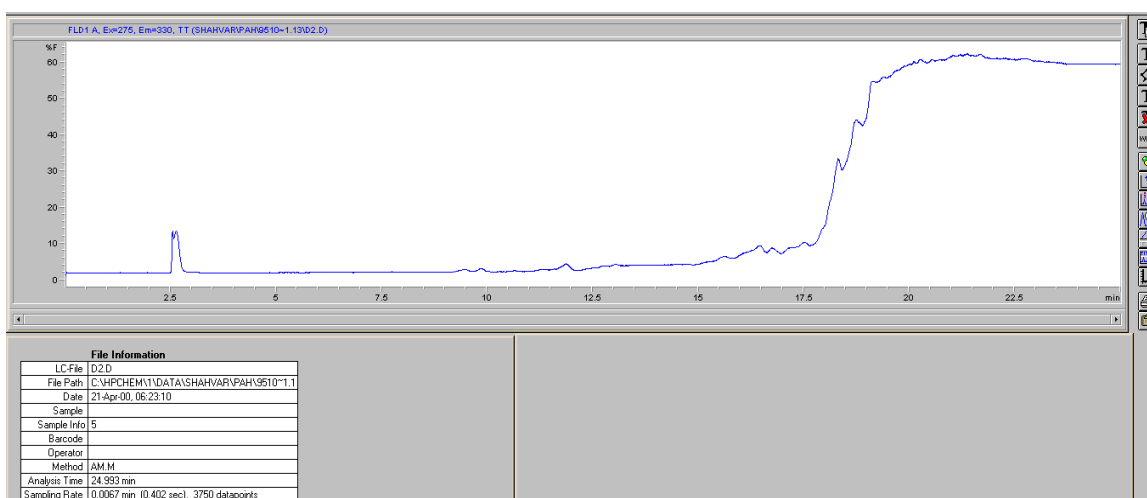
نتایج آنالیز کروماتوگرافی تیمارهای مورد مطالعه (شکل ۴-۱۲، ۴-۱۳، ۴-۱۴، ۴-۱۵ و ۴-۱۶) در رابطه با غلظت ۱۶ ترکیب PAHs در ۵ گروه مورد مطالعه در این پژوهش در شکل ۴-۱۷ خلاصه شده است.



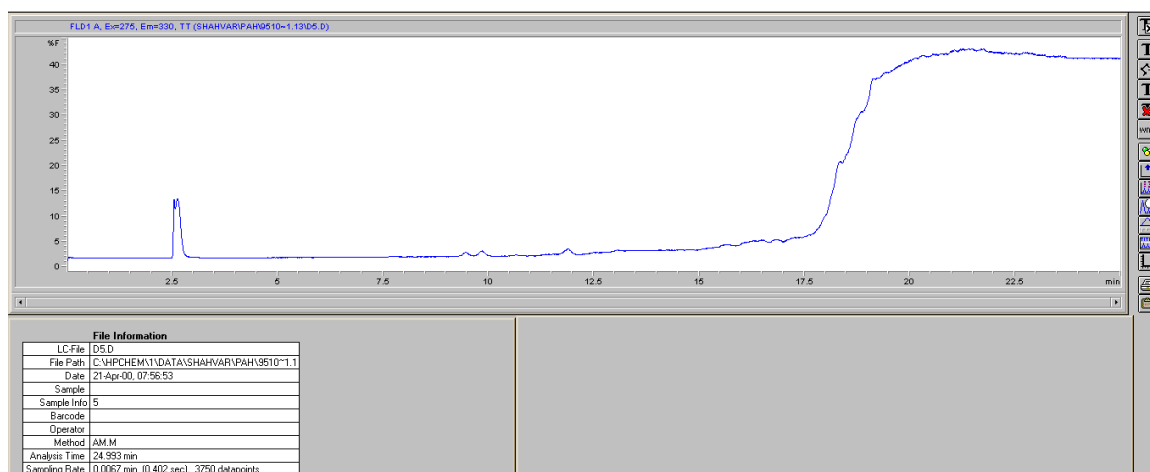
شکل ۴-۱۲: کروماتوگرافی مربوط به نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار فاقد گیاه و اصلاح‌کننده (رنگ آبی و قرمز مربوط به نمونه در دو حجم تزریقی مختلف است به دلیل اشباع شدن زمینه در این نمونه از دو حجم غلظتی برای اندازه‌گیری دقیق تر استفاده شده است و رنگ سبز مربوط به استاندارد باشد).



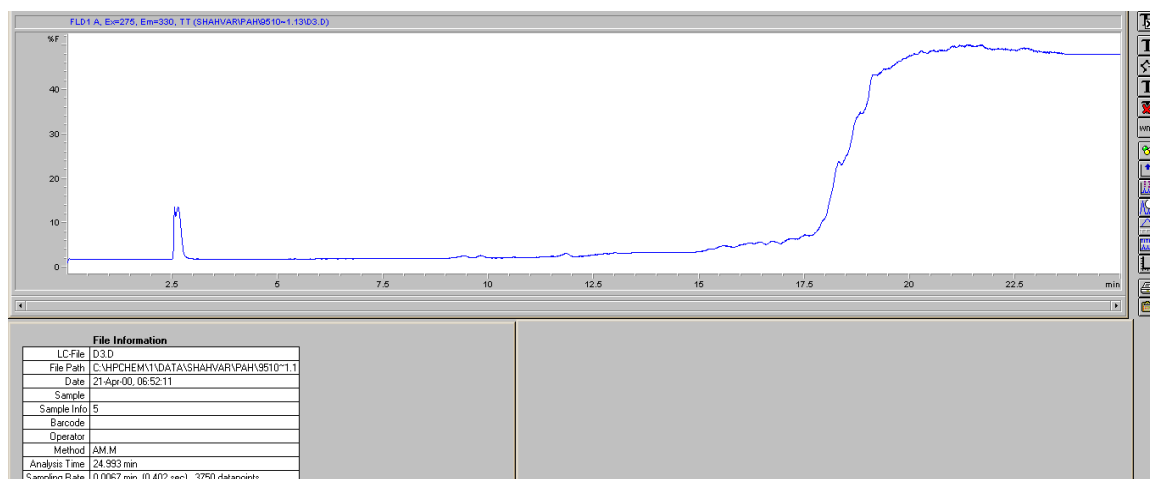
شکل ۴-۱۳: کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه علف بره و فاقد اصلاح‌کننده



شکل ۴-۱۴: کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح‌کننده



شکل ۴-۱۵: کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه علف بره و اصلاح کننده‌های قارچ میکوریزا و پودر یونجه



شکل ۴-۱۶: کروماتوگرافی نمونه خاک آلوده به PAHs در تیمار گیاه جارو علفی و اصلاح کننده‌های قارچ میکوریزا و محلول غذایی.

کشت هر دو گیاه مورد مطالعه بدون حضور سایر اصلاح کننده‌ها سبب کاهش غلظت ترکیبات (C_{10} - C_{12}) در مقایسه با تیمار بدون گیاه شده است. این کاهش در تیمار گیاه علف بره ۲۱/۴۸ درصد و در گیاه جارو علفی ۴۳ درصد بوده است. همچنین تیمار گیاه علف بره در حضور اصلاح کننده‌های قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش ۵۵/۳۷ درصدی و نسبت به گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده کاهش ۴۳/۱۵ درصدی ترکیبات آروماتیک را نشان داده است (شکل ۴-۱۷).

همچنین غلظت ترکیبات (C_{10} - C_{12}) در نمونه گیاه جارو علفی و اصلاح کننده‌های قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده ۸۴/۶۲ درصد و نسبت به گیاه جارو علفی و فاقد

اصلاح کننده ۶۹/۵۶ درصد کم تر بوده است. میزان حذف ترکیبات ($C_{10} - C_{12}$) در نمونه گیاه جاروعلفی نسبت به گیاه علف بره بیش تر بوده است. غلظت ترکیبات این گروه در تیمار جاروعلفی ۲۷ درصد کم تر از تیمار علف بره بوده است (شکل ۴-۱۷).

کشت هر دو گیاه مورد مطالعه بدون حضور سایر اصلاح کننده ها سبب کاهش غلظت ترکیبات ($C_{13} - C_{15}$) در مقایسه با تیمار بدون گیاه شده است. این کاهش در تیمار گیاه علف بره ۵۲ درصد و در گیاه جارو علفی ۸۴ درصد بوده است. همچنین تیمار گیاه علف بره در حضور اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش ۹۴ درصدی و نسبت به گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده کاهش ۸۷/۵ درصدی ترکیبات آروماتیک را نشان داده است (شکل ۴-۱۷).

همچنین غلظت ترکیبات ($C_{13} - C_{15}$) در نمونه گیاه جارو علفی و اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده ۹۴/۵ درصد و نسبت به گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده ۶۶ درصد کم تر بوده است. میزان حذف ترکیبات ($C_{13} - C_{15}$) در نمونه گیاه جاروعلفی نسبت به گیاه علف بره بیش تر بوده است. غلظت ترکیبات این گروه در تیمار جاروعلفی ۶۶ درصد کم تر از تیمار علف بره بوده است (شکل ۴-۱۷).

کشت هر دو گیاه مورد مطالعه بدون حضور سایر اصلاح کننده ها سبب کاهش غلظت ترکیبات ($C_{16} - C_{18}$) در مقایسه با تیمار بدون گیاه شده است. این کاهش در تیمار گیاه علف بره ۲۰ درصد و در گیاه جارو علفی ۲۷ درصد کم تر بوده است. همچنین تیمار گیاه علف بره در حضور اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش ۷۲ درصدی و نسبت به گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده کاهش ۶۶ درصدی ترکیبات آروماتیک را نشان داده است (شکل ۴-۱۷).

همچنین غلظت ترکیبات ($C_{16} - C_{18}$) در نمونه گیاه جارو علفی و اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده ۷۴ درصد و نسبت به گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده ۶۵ درصد کم تر بوده است. میزان حذف ترکیبات ($C_{16} - C_{18}$) در نمونه گیاه جاروعلفی نسبت

به گیاه علف بره بیش تر بوده است. غلظت ترکیبات این گروه در تیمار جاروعلفی ۱۲ درصد کم تر از تیمار علف بره بوده است (شکل ۴-۱۷).

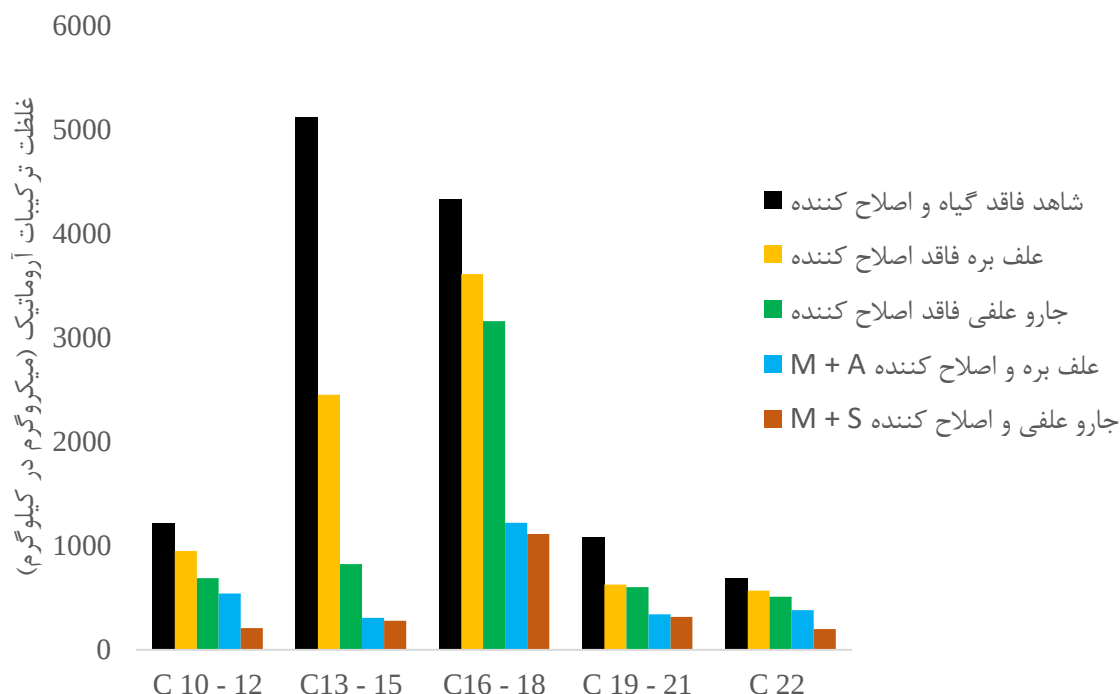
کشت هر دو گیاه مورد مطالعه بدون حضور سایر اصلاح کننده ها سبب کاهش غلظت ترکیبات (C_{19} - C_{21}) در مقایسه با تیمار بدون گیاه شده است. این کاهش در تیمار گیاه علف بره ۴۲ درصد و در گیاه جارو علفی ۴۴ درصد بوده است. همچنین تیمار گیاه علف بره در حضور اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش ۶۹ درصدی و نسبت به گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده کاهش ۴۶ درصدی ترکیبات آروماتیک را نشان داده است (شکل ۴-۱۷).

همچنین غلظت ترکیبات (C_{19} - C_{21}) در نمونه گیاه جارو علفی و اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده ۷۱ درصد و نسبت به گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده ۴۷ درصد کم تر بوده است. میزان حذف ترکیبات (C_{19} - C_{21}) در نمونه گیاه جاروعلفی نسبت به گیاه علف بره بیش تر بوده است. غلظت ترکیبات این گروه در تیمار جاروعلفی ۴ درصد کم تر از تیمار علف بره بوده است (شکل ۴-۱۷).

کشت هر دو گیاه مورد مطالعه بدون حضور سایر اصلاح کننده ها سبب کاهش غلظت ترکیبات (C_{22}) در مقایسه با تیمار بدون گیاه شده است. این کاهش در تیمار گیاه علف بره ۱۷ درصد و در گیاه جارو علفی ۲۶ درصد بوده است. همچنین تیمار گیاه علف بره در حضور اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش ۴۵ درصدی و نسبت به گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده کاهش ۳۳ درصدی ترکیبات آروماتیک را نشان داده است (شکل ۴-۱۷).

همچنین غلظت ترکیبات (C_{22}) در نمونه گیاه جارو علفی و اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده ۷۱ درصد و نسبت به گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده ۶۱ درصد کم تر بوده است. میزان حذف ترکیبات (C_{22}) در نمونه گیاه جاروعلفی نسبت به گیاه علف

بره بیش تر بوده است. غلظت ترکیبات این گروه در تیمار جاروعلفی ۱۱ درصد کم تر از تیمار علف بره بوده است (شکل ۴-۱۷).

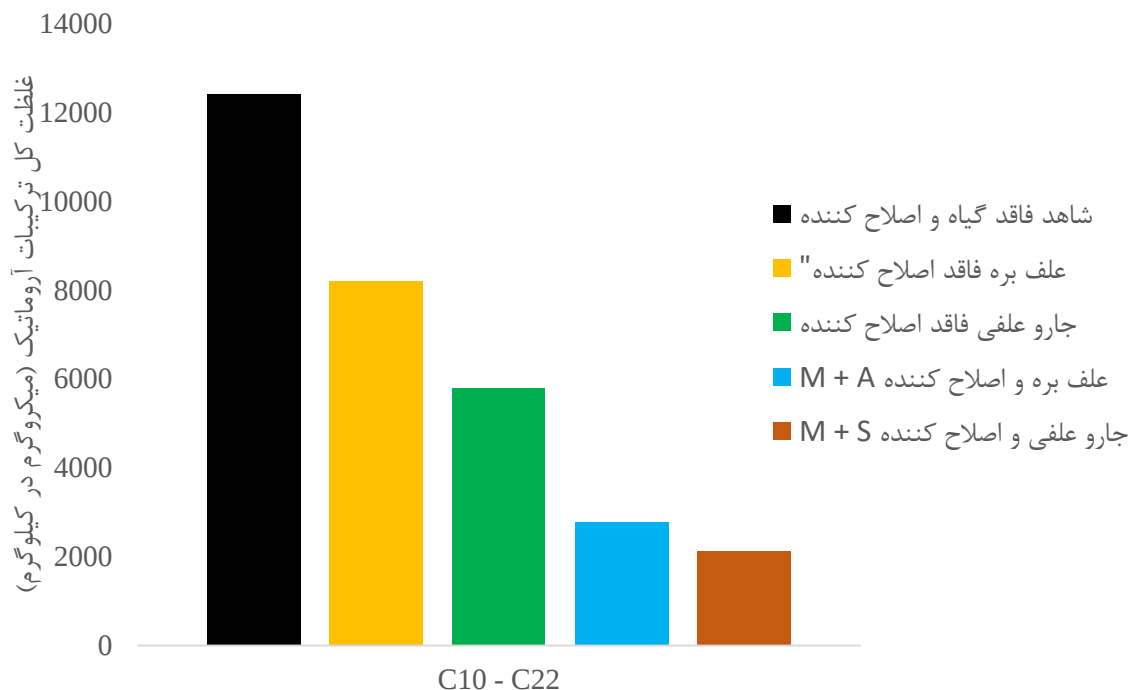


شکل ۴-۱۷: غلظت ترکیبات PAHs در نمونه خاک فاقد گیاه و اصلاح کننده، نمونه خاک دارای گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده، نمونه خاک دارای گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده، نمونه خاک دارای گیاه علف بره و اصلاح کننده (M + A) و نمونه خاک دارای گیاه جارو علفی و اصلاح کننده (M + S).

کشت هر دو گیاه مورد مطالعه بدون حضور سایر اصلاح کننده ها سبب کاهش غلظت ترکیبات ($C_{10} - C_{22}$) در مقایسه با تیمار بدون گیاه شده است. این کاهش در تیمار گیاه علف بره ۳۴ درصد و در گیاه جارو علفی ۵۳ درصد بوده است. همچنین تیمار گیاه علف بره در حضور اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و پودر یونجه نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده کاهش ۷۸ درصدی و نسبت به گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده کاهش ۶۶ درصدی ترکیبات آروماتیک را نشان داده است (شکل ۴-۱۸).

همچنین غلظت ترکیبات ($C_{10} - C_{22}$) در نمونه گیاه جارو علفی و اصلاح کننده های قارچ میکوریزا و محلول غذایی نسبت به شاهد فاقد گیاه و اصلاح کننده ۸۳ درصد و نسبت به گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده ۶۳ درصد کم تر بوده است. میزان حذف ترکیبات ($C_{10} - C_{22}$) در نمونه گیاه جاروعلفی

نسبت به گیاه علف بره بیش تر بوده است. غلظت ترکیبات این گروه در تیمار جاروعلفی ۲۹/۵ درصد کم تر از تیمار علف بره بوده است (شکل ۴-۱۸).



شکل ۴-۱۸: غلظت کل ترکیبات PAHs در نمونه خاک فاقد گیاه و اصلاح کننده، نمونه خاک دارای گیاه علف بره و فاقد اصلاح کننده، نمونه خاک دارای گیاه جارو علفی و فاقد اصلاح کننده، نمونه خاک دارای گیاه علف بره و اصلاح کننده (M + A) و نمونه خاک دارای گیاه جارو علفی و اصلاح کننده (M + S).

قارچ میکوریزا آربوسکولا با بهبود شرایط خاک از طریق افزایش جذب آب، مواد غذا و با افزایش فعالیت میکروبی در خاک های آلوده به (PAH) منجر به افزایش رشد گیاه و به طبع آن افزایش تخریب ترکیبات (PAH) می شود (رامامورتی و رامیان، ۲۰۱۲). افزودن کودهای شیمیایی و ماده آلی به خاک های آلوده به ترکیبات (PAH) باعث بهبود شرایط خاک می شود (گانم و همکاران، ۲۰۱۳). ترشحات ریشه ای حاوی قند، ویتامین ها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی و نوکلئوتیدها هستند (هرناندز-ارتیگا و همکاران، ۲۰۱۲). که به جریان همرفتی (هدایتی) محلول های غذایی در رایزوسفر می پیوندند و می تواند منجر به افزایش تعداد و فعالیت میکروبی شود (لی و هکاران، ۲۰۱۱). جنیفر و همکاران (۲۰۰۵) تنوع و فراوانی زیاد

میکروبی را در خاک آلوده به نفت خام کشت شده با گراس چند ساله و یونجه نسبت به خاک کشت نشده مشاهده کردند. افزودن قارچ‌های آربوسکولا و میکوریزا باعث بهبود رشد گیاه از طریق همزیستی با گیاه، بهبود شرایط فیزیکی، شیمیایی، میکروبی و در دسترس قرار دادن عناصر غذایی برای گیاه در اصلاح خاک‌های آلوده به ترکیبات (PAH) می‌شود (لنوار و همکاران، ۲۰۱۶). نتایج پژوهش مورد نظر با نتایج پژوهش محققین دیگر همسو می‌باشد همان طور که در نتایج گفته شده بهترین بیومس خشک اندام‌های هوایی و ریشه، بیشترین درصد تشکیل هیف و از همه مهمتر بیشترین میزان حذف ترکیبات (PAH) در گلدان‌های حاوی گیاه جارو علفی و علف بره با اصلاح‌کننده‌های قارچ میکوریزا، محلول غذایی و پودر یونجه می‌باشد.

علایی و همکاران (۱۳۸۹) طی یک پژوهش به مطالعه حذف فنانترین توسط گیاه سورگورم پرداختند. پس از تیماربندی بر اساس طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و کشت گیاه انتخابی در محیط گلخانه با شرایط مشابه منطقه مورد نظر، روند تغییرات غلظت آلاینده در خاک در مدت ۱۶ هفته (دوره رشد کامل گیاه) دنبال شد. نتایج به دست آمده نشان داد که گیاه مذکور در شرایط اعمال شده، میزان حذف آلاینده در خاک را تا ۲۰ درصد افزایش داده است.

اسمولوی و همکاران (۲۰۱۸) طی یک پژوهش به منظور گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به PAHs از گیاه گینه و اصلاح‌کننده کمپوست (SMC) در غلظت‌های (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد در ۵ کیلوگرم خاک آلوده) در شرایط آزمایشگاه استفاده نمودند و نتایج نشان داد که استفاده از گیاه به همراه اصلاح‌کننده درصد بیشتری از ترکیبات آروماتیک را از خاک حذف می‌کند. نتایج این پژوهش هم نشان دهنده این است که استفاده از گیاه به همراه اصلاح‌کننده درصد بیشتری از ترکیبات آروماتیک را از خاک حذف می‌کند.

کریستالدی و همکاران (۲۰۱۷) طی یک پژوهش جهت تخریب هیدروکربن‌های نفتی (PAH) از گیاهان جو و آفتاب‌گردان و اصلاح‌کننده‌های (بیوچار، کمپوست و محلول غذایی) استفاده کرد. نتایج این پژوهش

نشان داد که گیاه تحت تاثیر اصلاح کننده ها بیشترین بیومس خشک اندام هوایی و ریشه را دارا می باشد و تخریب (PAH) بیشتر صورت گرفته است. نتایج پژوهش های مذکور گواه این نتیجه می باشد که بیشترین بیومس خشک و تخریب هیدروکربن در گلدان های رخ داده است که حاوی گیاه و اصلاح کننده می باشد.

وانگ و همکاران (۲۰۱۲) طی یک آزمایش اصلاح خاک های آلوده به پایرین توسط گیاه یونجه و چاودار با اصلاح کننده مواد آلی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که کاربرد مواد آلی به همراه گیاه تجزیه پایرین را به طور معنی دار افزایش می دهد. فنگ و همکاران (۲۰۱۴) طی یک پژوهش نقش کمپوست زباله شهری و گیاه فیسکو در حذف PAHs از خاک را مثبت ارزیابی کردند به طوری که در خاک اصلاح شده حاوی تیمار ۱۰ درصد کمپوست و گیاه کمترین مقدار PAHs گزارش شد.

فصل پنجم

نتیجہ گیری و پیشہ سادہ

۵-۱ نتیجه گیری

۱- گونه‌های بومی انتخاب شده در این پژوهش از منطقه خرم‌آباد به شکل موثری سبب کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی و همچنین کاهش غلظت ۱۶ ترکیب آروماتیک مورد مطالعه شده است. بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد دو گیاه جاروعلفی و علف بره در فرآیند گیاه پالایی مفید باشد.

۲- اصلاح خاک آلوده به ترکیبات نفتی به کمک محلول غذایی و پودر یونجه در فرآیند گیاه‌پالایی این خاک‌ها همراه با دو گیاه علف بره و جارو علفی به افزایش توان این گیاهان در پالایش خاک‌ها کمک می‌نماید.

۳- کاربرد کود زیستی حاوی قارچ آربوسکولار میکوریزا با بهبود شرایط رشد گیاه و توسعه اندام هوایی و ریشه آن به افزایش پتانسیل دو گیاه مورد مطالعه در کاهش غلظت ترکیبات نفتی خاک آلوده کمک نموده است.

۴- اثری ترکیبی قارچ میکوریزا با دو اصلاح کننده پودر یونجه و محلول غذایی منجر به بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه و قارچ شده و فرآیند گیاه پالایی خاک آلوده نفتی را تسهیل می‌نماید.

۵- گیاه جارو علفی به همراه قارچ میکوریزا و محلول غذایی بیش‌ترین تأثیر مثبت را در حذف ترکیبات نفتی داشته‌اند.

۵-۲ پیشنهادها

- استفاده از گیاهان بومی در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به PAHs
- استفاده از اصلاح‌کننده‌های آلی و تغذیه‌ای مختلف جهت بهبود شرایط محیطی خاک در پروژه‌های گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده

- شناسایی و استفاده از ریزجاندارن بومی خاک از جمله قارچ‌ها و باکتری‌های بومی در ترکیب با گیاهان بومی خاک‌های آلوده نفتی جهت اصلاح این خاک‌ها.

فهرست منابع (فارسی و لاتین)

ابراهیمی س.، شایگان ج.، ملکوتی م. ج.، بای بوردی م. و قدوسی ج. (۱۳۸۸) رساله دکتری دانشگاه تربیت مدرس: " بررسی مکانی- زمانی رفتار برخی آلاینده‌های هیدروکربون و حلال‌های شیمیایی در محیط متخلخل خاک " ، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۵۰ ص.

ابراهیمی س.، شایگان ج. و ملکوتی م. ج. (۱۳۹۰) " بررسی وجود و میزان احتمالی آلودگی هیدروکربنی در خاک و آب زیرزمینی مطالعه موردی: محدوده کارخانه آنتی‌بیوتیک سازی شهر ساری " **مجله علمی پژوهشی مدیریت خاک و تولید پایدار**، جلد اول، شماره ۱، ص ۶۳-۸۰.

احمدی مقدم م. و کمانی ح.، (۱۳۸۳) " حذف ترکیبات آروماتیک چند حلقوی از خاک به کمک آنزیم " **نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران**، ص ۲۷۳۱-۲۷۲۴.

اکبری م.، چهرگانی ع.ک. و محسن زاده ف. (۱۳۸۹) " ارزیابی توانایی قارچ *Aspergilles sp.* و *Acromonium sp.* در زیست‌پالایی آلودگی‌های نفتی در شرایط آزمایشگاهی " **پنجمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی، خوزستان**.

باغوند ا.، دریابیگی زند ع. و وثوق. (۲۰۱۴) "ارزیابی نشت هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای از سایت‌های آلوده به ترکیبات نفتی" **فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست** ۱۶: ۱۱-۱

بسالت پور ع.ا.، حاج‌عباسی م.ع.، درستکار و. و ترابی غ. (۱۳۸۹) " اصلاح خاک‌های آلوده به هیدروکربن- های نفتی به روش ترکیبی زمین پالای - گیاه‌پالایی " **مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی علوم آب و خاک** ۵۳:۱۴. ۱۲۹-۱۴۳.

پارسه ا.، علوی س.ن.، احمدی مقدم م.، جعفرزاده ن.، چهرازی م. و چرم م. (۱۳۹۰) پایان‌نامه کارشناسی ارشد: "بررسی کاربرد گیاه‌پالایی در مقیاس گلخانه‌ای برای حذف هیدروکربن‌های نفتی کل از خاک‌های آلوده به فت خام" دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.

جرفی س.، حقیقی فر ن.، احمدی م.، تكدستان ا.، بازافكن م.، موسوی س. و میرعالی س. (۲۰۱۶) "اصلاح زیستی سواحل آلوده به PAHs با استفاده از بیوسورفكتانت تولیدی از باکتری‌های جداسازی شده از خلیج فارس" دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، طب جنوب، ۱۹(۳)، ۳۶۱-۳۷۱.

جعفری فرجام ن.، ضرابی م.، حاتمیان ا. و محبعلی ق. (۱۳۹۴) "کرم‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی" همایش ملی و نمایشگاه تخصصی مهندسی محیط زیست ۸.

جعفری م.، ابراهیمی س. و موحدی نائینی ع. (۱۳۹۱) "زیست پالایی خاک‌های آلوده به نفت کوره تحت تأثیر همزمان کمپوست و زباله شهری و برخی کودهای شیمیایی" نشریه حفاظت از منابع آب و خاک ۴۳-۵۶.

جلابر م.، مرندی ر. و نصرآبادی ت. (۱۳۹۳) "استفاده از فرایندهای اکسیداسیون پیشرفته جهت کاهش لجن لجن بیولوژیکی تصفیه خانه پالایشگاه بندرعباس" پژوهش نفت. صفحه ۸۰.

حبیبی ح.، متشعزاده ب. و علیخانی ح. (۱۳۹۶) "تأثیر بیوچار و تیمارهای زیستی بر غلظت عناصر غذایی (فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و منگنز) گیاه تاج‌خروس در یک خاک آلوده به ترکیبات نفتی" مجله آب و خاک ایران. دوره ۴۸. شماره ۲. صفحه ۳۶۹-۳۸۴.

حیدرپور م. و علیایی م. (۲۰۱۳) "انتشار آلودگی‌های نفتی در خاک تحت تأثیر شرایط مختلف خاک و آلاینده" مجله عمران مدرس ۳۹:۵۱-۱۳.

خسروی نوده م.، عباسپور ع. و ابراهیمی س. (۱۳۹۱) پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه شاهرود "بررسی تغییرات تجزیه آلودگی نفتی خاک توسط سیستم‌های زیست پالایی". ص ۱۶.

خطیبی ش.، میر سید حسینی ح.، نظامی م. ط. و ابراهیمی س. (۱۳۸۸). "تغییر آلاینده‌های نفتی در خاک اطراف پالایشگاه تهران توسط یونجه، چمن و شبدر سفید" یازدهمین کنگره علوم خاک ایران، گرگان.

ربيعی م. (۱۳۹۴). "شناسایی گیاهان مرتعی" انتشارات پیام نور. جلد ۲.

ریاحی ن.، صفاری م. و پسندی پور ا. (۱۳۹۰) "بررسی رشد و نمو سورگوم (*Sorghum biocolor*) در خاک آلوده به هیدروکربن های نفتی و توانایی گیاه پالایی آن" **مجموعه مقالات اولین همایش ملی گیاه پالایی، کرمان، ص ۵۷-۵۸.**

سروی مغاللو و.، چرم م.، فلاح م. و معتمدی ح. (۱۳۹۱) "بررسی نقش قارچ میکوریزا و باکتری های تجزیه گر در افزایش گیاه پالایی ترکیبات نفتی در خاک های آلوده به نفت خام" **پژوهش های آب و خاک، جلد ۲۶، شماره ۴، ص ۸۴۱-۸۳۲.**

سعیدی س.، فتوت ا. و لکزیان ا. (۱۳۹۰) "بررسی تجزیه زیستی نرمال – هگزادکان بوسیله باکتری های سودوموناس" **دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران، تبریز.**

سید رضوی س.ن.، خدادادی ا. و گنجی دوست ح. (۱۳۹۰) "حذف نفت خام از خاک به کمک شوینده ی زیستی" **مجله محیط شناسی، سال ۳۷، شماره ۶۰، ص ۱۱۶-۱۰۷.**

سید علیخانی س.، شرفا م.، توسلی ا. و ابراهیمی س. (۱۳۹۰) "بررسی اثر رشد گیاهان در تراکم های مختلف بر پاک سازی هیدروکربن های نفتی خاک" **پژوهش های آب و خاک، ۲۵ (۵).**

شریف حسینی س.، شهبازی ع.، یزدی پور ع.ر. و کامرانفر ا. (۱۳۸۸) "پالایش زیستی خاک های آلوده به نفت خام با کود شیمیایی" **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۳، شماره ۳، ص ۱۴۵-۱۵۵.**

شهریاری م.، ثوابی فیروزآبادی غ.، مینایی د. و پدیداران م. (۱۳۸۵) "تاثیر مخلوط دو گیاه یونجه (*Medicago sativa*) و فسکیو (*Festuca arundinacea*) در گیاه پالایی خاک آلوده به نفت خام سبک" **نشریه علوم طبیعی ۴، ۳۳-۴۰.**

شکوهیان م. و مرادی م. (۱۳۹۲) "اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به گازوئیل با استفاده از کود گاوی"

نشریه مهندسی عمرانی فردوسی ۱۱۸-۱۰۵.

ظهراپی ف.، عباسپور ع. و درستکار و. (۱۳۹۶) "اصلاح خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی توسط دو گیاه

بومی منطقه گچساران" کنفرانس بین‌المللی برنامه‌ریزی و مدیریت محیط زیست. شماره ۴

عابدی کوپایی ج.، قاهری ا.، اسلامیان س. و حسینی ه. (۱۳۹۱) "بررسی مدل‌های سینتیک حذف

بیولوژیکی آلودگی نفتی خاک اطراف لوله‌های انتقال نفت" ماهنامه علمی پژوهشی آب و فاضلاب

۲۵: ۶۲-۶۸.

علایی ا.، وکیلی ف. و مهرداد شریف ا. (۱۳۸۹) "گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به فنانترن با استفاده از گیاه

سورگوم" نشریه محیط شناسی ۵۳: ۸۸-۷۹.

علوی بختیاروند س.، احمدی مقدم م.، پارسه ا.، جعفرزاده حقیقی فرد ن.، چهارزی م. و چرم م. (۱۳۹۲)

"بررسی کارایی گیاه پالایی در حذف هیدروکربن‌های نفتی از خاک رسی_سیلتی با استفاده از آلروپوس

لیترالیس" فصلنامه علمی پژوهشی انجمن علمی بهداشت محیط ایران ۷: ۷۳-۸۴.

فرامرزی سپهر م.، نوروزی ح. و فرج‌زاده م. (۱۳۹۲) "توانایی گیاه پالایی گونه Polypogon

monspeliensis L در پالایش خاک‌های آلوده به نفت" فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی ۱: ۷۵-

۸۷

گیتی پور س.، صنعتی فروش ع.، تره باری ه.، عبدی م.، گیتی پور ع. و حیدری س. (۱۳۹۵) " کارایی روش استخراج بخارات آلاینده‌ها (SEV) در پاک‌سازی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی " **مجله علوم و**

تکنولوژی محیط زیست ۱۸: ۹-۱.

لرستانی ب.، نوری ر. و کلاهچی ر. (۱۳۹۵) " زیست پالایش خاک‌های آلوده به نفت خام سبک توسط بقولات " **فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست**، ۱۸، ۱۰۸-۱۰۱.

محسن‌زاده ف. (۲۰۱۵) " بررسی راندمان زیست‌پالایی آلودگی‌های نفتی توسط سویه‌های باکتریایی بومی جدا شده از خاک‌های آلوده مناطق سردسیری پالایشگاه تبریز " **مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی**. دوره ۲۷، شماره ۳، صفحه ۴۰۶-۴۱۷.

مقیمری. ح.، حیدری تبار ر. و حامدی ج. (۲۰۱۶) "ارزیابی تجزیه زیستی آلودگی های نفتی بوسیله سویه *Phaeosphaeria spp.* UTMC 5003 **مجله میکروب شناسی پزشکی ایران** ۹: ۶۳-۷۲

مینای تهرانی د.، حرفت منش ع. و آذری دهکردی ف. (۱۳۸۴) " مطالعه تجزیه زیستی نفت خام سنگین در خاک با مقیاس پایلوت " **مجله علوم محیطی**، شماره ۱۰، ص ۷۱-۸۲

ورناصری ق.، عبدالامیر م. و عنایتی ضمیر ن. (۱۳۹۴) " مقایسه روش‌های زیستی و شیمیایی در پالایش یک خاک آلوده به نفت خام " **مهندسی زراعی**، ۳۸(۲)، ۱۱۱-۱۲۴

نیسی ع.، وثوقی م.، محمدی ب.، محمدی م.، نعیم آبادی ا. و هاشم زاده ب. (۲۰۱۴) " گیاه‌پالایی فلزات سنگین توسط گیاه آفتابگردان " و یک مطالعه مروری. **مجله طنین سلامت**، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، ۲(۲)، ۶۵-۵۵.

Abedi Koupai J., Ghaheri E., Eslamian S.S. and Hosseini H. (2013). Investigation the Kinetic Models of Biological Removal of Petroleum Contaminated Soil Around Oil Pipeline Using Ryegrass.

Abbaspour A, Kalbasi M, Hajrasuliha S, Fotovat A (2008) Effect of Organic Matter and Salinity on Ethylenediaminetetraacetic Acid–Extractable and Solution Species of Cadmium and Lead in Three Agricultural Soils Communications in soil science and plant analysis 39:983-1005

Abbaspour A, Kalbasi M, Hajrasuliha S. and Golchin A (2007) Effects of plant residue and salinity on fractions of cadmium and lead in three soils Soil and Sediment Contamination 16:539-555.

Abioye P.O., Abdul Aziz A. and Agamuthu P. (2010) " Enhanced biodegradation of used engine oil in soil amended with organic wastes" Water, Air, and Soil Pollution 209:173-179

Adesodun J, Mbagwu J (2008) Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings Bioresource technology 99:5659-5665

Ahn Y., Jung H., Tatavarty R., Choi H., Yang J. and Kim I.s. (2005) " Monitoring of petroleum hydrocarbon degradative potential of indigenous microorganisms in ozonated soil Biodegradation 16:45-56

Ali T., Mahmood S., Khan M.Y., Aslam A., Hussain M.B., Asghar H.N. and Akhtar M.J. (2013) Phytoremediation of cadmium contaminated soil by auxin assisted bacterial inoculation Asian J Agric Biol 1:79-84

Aller L., Bennet., Lehr J., Petty R.J. and Hachett G. (1987) " Drastic: A standardized system for evaluating ground water pollution potential using hydrogeologic U.S.EPA" 600:2-87-035.

Al-Mansoori A.F., Idris M., Abdullah S.R.S. and Anuar N (2017) Phytoremediation of contaminated soils containing gasoline using *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) in greenhouse pots Environmental Science and Pollution Research 24:11998-12008

Alrajhi A., Beecham S. and Hassanli, A., (2017). "Effects of partial root-zone drying irrigation and water quality on soil physical and chemical properties". *Agricultural Water Management*, 182, March, pp,117-125.

Anyakora C., Ehianeta T. and Umukoro O. (2013) "Heavy metal levels in soil samples from highly industrialized Lagos environment African African" *Journal of Environmental Science and Technology* 7:917-924.

Asemoloye M. D., Jonathan S. G., Jayeola A. A. and Ahmad, R. (2018). Mediation influence of spent mushroom compost on phytoremediation of black-oil hydrocarbon polluted soil and response of *Megathyrus maximus* Jacq. *Journal of Environmental Management*, 200, 253-262.

Badr N., Fawzy M. and Al-Qahtani K.M. (2012) Phytoremediation: an economical solution to heavymetal-polluted soil and evaluation of plant removal ability *World Appl Sci J* 16:1292-1301

Barati M., Bakhtiari F., Mowla D., and Safarzadeh S. (2017). Total petroleum hydrocarbon degradation in contaminated soil as affected by plants growth and biochar. *Environmental Earth Sciences*, 76(20), 688.

Barati M., Bakhtiari F., Mowla D., and Safarzadeh S. (2017). Comparison of the effects of poultry manure and its biochar on barley growth in petroleum contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*, (just-accepted), 00-00.

Besalatpour A., Hajabbasi M., Khoshgoftarmanesh A. and Dorostkar V (2011) " Landfarming process effects on biochemical properties of petroleum-contaminated soils *Soil and sediment contamination* 20:234-248

Biache C., Ouali S., Cébron A., Lorgeoux C., Colombano S. and Faure, P. (2017). Bioremediation of PAH-contaminated soils: Consequences on

formation and degradation of polar-polycyclic aromatic compounds and microbial community abundance. *Journal of hazardous materials*, 329, 1-10.

Bhargava A. and Srivastava S. (2014). Transgenic approaches for phytoextraction of heavy metals. In: *Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes*. Springer, New York, pp. 57–80.

Bogunovic, I., Pereira, P., and Brevik, E., (2017). "Spatial distribution of soil chemical properties in an organic farm in Croatia". *Science of the Total Environment*, 584, pp, 535-545.

Boopathy R. (2003)" Anaerobic degradation of No. 2 diesel fuel in the wetland sediments of Barataria-Terrebonne estuary under various electron acceptor conditions" *Bioresource technology* 86:171-175

Boopathy R. (2004)" Anaerobic degradation of No. 2 diesel fuel in soil: a soil column study *Bioresource technology* 94:143-151

Cennerazzo J., De Junet A., Audinot J. N. and Leyval C. (2017). Dynamics of PAHs and derived organic compounds in a soil-plant mesocosm spiked with ¹³C-phenanthrene. *Chemosphere*, 168, 1619-1627.

Cheng L., Wang Y., Cai Z., Liu J., Yu B. and Zhou Q. (2017). Phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated saline-alkali soil by wild ornamental Iridaceae species. *International journal of phytoremediation*, 19(3), 300-308.

Cheng M., Zeng G., Huang D., Yang C., Lai C., Zhang C. and Liu Y. (2017). . "Tween 80 surfactant-enhanced bioremediation: toward a solution to the soil contamination by hydrophobic organic compounds." *Critical Reviews in Biotechnology*, pp, 1-14.

Chibuikwe G. (2013). Use of mycorrhiza in soil remediation: a review. *Scientific Research and Essays*, 8, 1679–1687.

Chirakkara R. A. and Reddy K. R. (2015). Biomass and chemical amendments for enhanced phytoremediation of mixed contaminated soils. *Ecological Engineering*, 85, 265-274.

Ciesielczuk, T. and Rosik-Dulewska, C. (2013). Wykorzystanie kompostów z odpadów komunalnych i sorbentów handlowych do degradacji zanieczyszczeń ropopochodnych. *Rocznik Ochrona Środowiska (Annual Set the Environment Protection)*, 15, 766-779.

Cicatelli A., Torrigiani P., Todeschini V., Biondi S., Castiglione S. and Lingua, G. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi as a tool to ameliorate the phytoremediation potential of poplar: biochemical and molecular aspects. *iForest-Biogeosciences and Forestry*, 7(5), 333.

Cristaldi A., Conti G.O., Jho E.H., Zuccarello P., Grasso A., Copat C., and Ferrante M. (2017). Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. *Environmental Technology & Innovation*, 8, 309-326.

Daryabeigi Zand A., Nabi Bidhendi GH.R. and Mehrdadi N. (2010) "Phytoremediation of total petroleum hydrocarbons (TPHs) using plant species in Iran" *Turk. J. Agric.* 34: 429-438

Das K. and Mukherjee A.K. (2007) "Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East" *India Bioresource technology* 98:1339-1345

Davamani V., Lourduraj A. C. and Velmurugan M. (2010). Influence of VAM in bioremediation of environmental pollutants. *Mycorrhizal Biotechnology*, 100-115.

Debiane D et al. (2008) In vitro evaluation of the oxidative stress and genotoxic potentials of anthracene on mycorrhizal chicory roots *Environmental and Experimental Botany* 64:120-127.

Debiane D et al. (2009) Mycorrhization alleviates benzo [a] pyrene-induced oxidative stress in an in vitro chicory root model *Phytochemistry* 70:1421-1427.

Deng S. and Zeng D. (2017) " Removal of phenanthrene in contaminated soil by combination of alfalfa, white-rot fungus, and earthworms" *Environmental Science and Pollution Research* 24: 7565-7571

Etim E. (2012) Phytoremediation and its mechanisms: a review *Int J Environ Bioenergy* 2:120-136.

Feng, Lijuan, Liqui Zhang, and Li Feng. (2014). Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil amended with sewage sludge compost. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 200- 207.

FerradjiF. Z., Mnif S., Badis A., Rebbani S., Fodil D., Eddouaouda K., and Sayadi S. (2014). "Naphthalene and crude oil degradation by biosurfactant producing *Streptomyces* spp. isolated from Mitidja plain soil (North of Algeria)" *International Biodeterioration Biodegradation*, 86, 300-308

Gagni S. and Cam D. (2007) "Stigmastane and hopan as conserved biomarkers for estmatin oil biodegradation in a former refinery plant-contaminated soil *Chemosphere* 67:1975-1981

Gao Y., Yuan X., Lin X., Sun B. and Zhao Z. (2015). Low-molecular-weight organic acids enhance the release of bound PAH residues in soils. *Soil and Tillage Research*, 145, 103-110.

Ghanem A., D'Orazio V. and Senesi N. (2013). Effects of compost addition on pyrene removal from soil cultivated with three selected plant species. *CLEAN—Soil, Air, Water*, 41(12), 1222-1228.

Hall J., Soole K. and Bentham R. (2011) Hydrocarbon phytoremediation in the family Fabacea—a review *International journal of phytoremediation* 13:317-332.

Han T., Zhao Z., Bartlam M. and Wang Y. (2016). Combination of biochar amendment and phytoremediation for hydrocarbon removal in petroleum-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(21), 21219-21228.

Hernández-Ortega H.A, Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, Zavaleta-Mancera H.A, López-Delgado H.A. and Mendoza-López M.R. (2012) Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate *Journal of environmental management* 95:S319-S324

Hidayat A. and Tachibana S. (2012) "Biodegradation of Aliphatic Hydrocarbon in Three Types of Crude Oil by *Fusarium* sp. F 092 under Stress with Artificial Sea Water" *Journal of Environmental Science and Technology* 5:64-73

Hutchinson S.L., Banks M. and Schwab A. (2001) "Phytoremediation of aged petroleum sludge" *Journal of Environmental Quality* 30:395-403

Hutchinson S.L, Schwab A. and Banks M. (2001) "Phytoremediation of aged petroleum sludge: effect of irrigation techniques and scheduling" *Journal of environmental quality* 30:15-16

Janas M, Zawadzka A (2017) Wpływ składowiska odpadów przemysłowych na środowisko *Ecological Engineering* 18:64-73

Jenifer L.K., John N.K., Hung L. Jack T.T. (2005). The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil *Environmental Pollution* 133, no. 3 (2005): 455-465.

Kechavarzi C., Pettersson K., Leeds-Harrison P., Ritchie L. and Ledin S. (2007) Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers *Environmental pollution* 145:68-74

Khan J.A. and Rizvi S.H.A. (2011) Isolation and characterization of microorganism from oil contaminated sites *Advances in applied science research* 2:455-460.

Kulik N., Goi A., Trapido M. and Tuhkanen, T. (2006). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 78(4), 382-391.

Kumar D., Bhatia N. and Singh B., (2017). "Sustainability of Oil Seed-Bearing Bioenergy Plants in India (*Jatropha*, *Karanja*, and *Castor*) for Phytoremediation: A Meta-analysis Study". In *Phytoremediation Potential of Bioenergy Plants*, March, pp, 409-430.

Lenoir I., Lounes-Hadj Sahraoui A. and Fontaine J. (2016) "Arbuscular mycorrhizal fungal-assisted phytoremediation of soil contaminated with

persistent organic pollutants: a review European" Journal of Soil Science 67: 624-640.

Li J, Yu X, Wu S, Wang X, Wang S, Tam N. and Wong M (2011) Responses of bioaugmented ryegrass to PAH soil contamination International journal of phytoremediation 13:441-455.

Lu M., Zhang Z., Sun S., Wei X., Wang Q. and Su Y. (2010) The use of goossegrass (*Eleusine indica*) to remediate soil contaminated with petroleum Water, Air, & Soil Pollution 209:181-189

Lukić B., Huguenot D., Panico A., Fabbricino M., Van Hullebusch E. D. and Esposito G. (2016). Importance of organic amendment characteristics on bioremediation of PAH-contaminated soil. Environmental Science and Pollution Research, 23(15), 15041-15052.

Lu Y. F. and Lu, M. (2015). Remediation of PAH-contaminated soil by the combination of tall fescue, arbuscular mycorrhizal fungus and epigeic earthworms. Journal of hazardous materials, 285, 535-541.

Lu Y. F., Lu M., Peng F., Wan Y., and Liao M. H. (2014). Remediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soil by using a combination of ryegrass, arbuscular mycorrhizal fungi and earthworms. Chemosphere, 106, 44-50.

McGonigle, T. P., D. G. Evans, G. L. Fairchild and J. A. Swan. (1990). A new method which gives an objective.

Minai-Tehrani D., Herfatmanesh A., AzariDehkordi F and Minooi S., 2006. "Effect of salinity on biodegradation of aliphatic fractions of crude oil in soil". Pak.J.Biol.Sci, 9, pp, 1531-1535.

Mohammadi-Sichani M.M., Assadi M.M., Farazmand A., Kianirad M., Ahadi A. and Ghahderijani H.H. (2017) Bioremediation of soil contaminated crude oil by Agaricomycetes Journal of Environmental Health Science and Engineering 15:8.

Mohan V., Yoshida H., Taberna P. L., Clark J. H., Stankiewicz A., Mahjoub B. and Le Cloirec P. (2013). Biomass for sustainable applications: pollution remediation and energy. Royal Society of Chemistry.

Moubasher H., Hegazy A., Mohamed N., Moustafa Y., Kabieli H. and Harnad A. (2015) " Phytoremediation of soils polluted with crude petroleum oil using *Bassia scoparia* and its associated rhizosphere microorganisms"Int. Biodeterior. Biodegrad 98: 113-120

Mueller K.E. and Shann J.R. (2006) PAH dissipation in spiked soil: Impacts of bioavailability, microbial activity, and trees Chemosphere 64:1006-1014. Oliver, M.A. & Gregory, P.J. 2015. Soil, food security and human health: a review. European Journal of Soil Science, 66, 257–276.

Nie M., Wang Y., Yu J., Xiao M., Jiang L., Yang J., Fang C., Chen J. and Li, B. (2011). Understanding plant–microbe interactions for phytoremediation of petroleum- polluted soil. Plos One 6, e17961.

Okieimen C.O. and Okieimen F.E. (2002) " Effect of natural rubber processing sludge on the degradation of crude oil hydrocarbons in soil Bioresource technology 82:95-97

O'Mahony M., Dobson A.D.W., Barnes J.D. and Singleton L (2006) "The use of ozone in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil Chemosphere 63:307-314

Orazio V, Ghanem A, Senesi N. (2013). Phytoremediation of pyrene contaminated soils by different plant species. CLEAN–Soil, Air, Water;41(4):377-82.

Piazza G.A., Jangid k., Lukasik., Nalecz – Jaweski G., Berry C.J. and Brigmon R.L., (2008) Bull. Environ. Contam. Toxicol. 89: 329- 333.

Pradhan S.P, Conrad J., Paterek J.R. and Srivastava V.J. (1998)" Potential of Phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites"Journal of Soil Contamination 7:467-480

Ramamurthy A. S. and Memarian R. (2012). Phytoremediation of mixed soil contaminants. Water, Air, & Soil Pollution, 223(2), 511-518.

Rhodes C. L. (1996). The process simulation revolution: Thermophysical property needs and concerns. Journal of Chemical & Engineering Data, 41(5), 947-950.

Rolka E., Szostek R., Metody Wykorzystywane W remediacji gleb znieczyszonych rtęcią Methods used for remediation of soil contaminated with mercury.

Ros M., Rodriguez I. and Hernandez T. (2010) "Microbial communities involved in the bioremediation of an aged recalcitrant hydrocarbon polluted soil by using organic amendments Bioresource Technology 101:6916-6923

Schaefer M., Petersen S.O. and Filser J. (2005) "Effects of *Lumbricus terrestris*, *Allolobophora chlorotic* and *Eisenia fetida* on microbial community dynamics in oil contaminated soil" soil. Biology. Biochem. 37: 2065-2076.

Schckelford C. D., Daniel D.E. and Liljestrand H. M. (1989) " Diffusion of inorganic chemical species in compacted clay soil" *Journal of Contaminant Hydrology* 4:241-273

Shaker-Koohi S. (2014). Role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in phytoremediation of soils contaminated: A review. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(5), 1854-1864.

Singh N. and Singh V. (2013) Challenging the fate of persistent organic pollutants.

Talaie A.R., Jafaarzadeh N., Talaie M.R. and Beheshti m. (2008) " Optimization of Floating crude Biodegradation by experimental design method" *Koomesh Journal of semnan University Medical Sciences*. 11(1): 41-54.

Tang M, Chen H, Huang J. and Tian Z. (2009) AM fungi effects on the growth and physiology of *Zea mays* seedlings under diesel stress *Soil Biology and Biochemistry* 41:936-940.

Teng Y., Luo Y., Sun X., Tu C., Xu L., Liu W., ... and Christie P. (2010). Influence of arbuscular mycorrhiza and rhizobium on phytoremediation by alfalfa of an agricultural soil contaminated with weathered PCBs: a field study. *International journal of phytoremediation*, 12(5), 516-533.

Thomas G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. *Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods*, (methodsofsoilan3), 475-490.

Vaziri A., Panahpour E. and MirzaeeBeni M. (2013) Phytoremediation, a method for treatment of petroleum hydrocarbon contaminated soils *International Journal of Farming and Allied Sciences* 2:909-913.

Vieira P.A., Vieira R.B., Franca F.P. and Cardoso V.L., (2007) " Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline Journal of Hazardous Materials 140:52-59.

Vieheilig, H., A. P. Coughlan, U. Wyss and Y. Piche. (1998). "Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular mycorrhizal fungi". *Appl. Environ. Microbiol.* 64 ,pp 5004-5007.

Volchko Y., Norrman J., Bergknut M., Rosén L. and Söderqvist T. (2013) Incorporating the soil function concept into sustainability appraisal of remediation alternatives Journal of environmental management 129:367-376.

Walkley A. and Block IA. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.

Walworth J.L. and Reynolds C.M. (1995) " Bioremediation of a petroleum contaminated crtyc soil: effect of phosphozous, nitrogen, and Temperatur" *Journal of soil contam*, 4: 299-310.

Wang M.C., Chen Y.T., Chen S.H., Chang Chien S.W and Sunkara, S.V. (2012). Phytoremediatio of pyrene contaminated soils amended with compost and planted with ryegrass and alfalfa. *Chemosphere*, 87, 217–225.

Wu N., Zhang S., Huang H., Shan X., Christie P. and Wang Y. (2008) DDT uptake by arbuscular mycorrhizal alfalfa and depletion in soil as influenced by soil application of a non-ionic surfactant *Environmental pollution* 151:569-575.

Wydro U., Wołejko E., Jabłońska-Trypuć A., Butarewicz A. and Łoboda T. (2017). Wpływ osadu ściekowego na aktywność biologiczną gleb. *Budownictwo i Inżynieria Środowiska*, 8(2).

Xiao X., Chen H., Si C. and Wu, L. (2012). Influence of biosurfactant-producing strain *Bacillus subtilis* BS1 on the mycoremediation of soils contaminated with phenanthrene. *International biodeterioration & biodegradation*, 75, 36-42.

Yu X, Wu S, Wu F and Wong M. (2011) Enhanced dissipation of PAHs from soil using mycorrhizal ryegrass and PAH-degrading bacteria *Journal of hazardous materials* 186:1206-1217.

Zhang J., Yin R., Lin X., Liu W., Chen R. and Li X. (2010). Interactive effect of biosurfactant and microorganism to enhance phytoremediation for removal of aged polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Journal of Health Sciences*, 56, 257–266.

Zhaang Z., Zhou Q., Peng S. and Cai Z. (2010). Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Sorghum* and its microbial community. *Science of the Total Environment*, 408(22), 5600-5605.

Zhao C., Gupta V. V., Degryse F., and McLaughlin M. J., (2017). "Effects of pH and ionic strength on elemental sulphur oxidation in soil". *Biology and Fertility of Soils*, 2, February, pp, 1-10.

ABSTRACT

The petroleum materials released from corroded old pipelines would pollute soils, shallow groundwater and air as a consequence, threat the health of human and environment. Therefore, the removal of these compounds from environment is vital. The stability of these pollutants at the soil and their gradual accumulation over time would disrupt the normal function of the soil, such as reduced agricultural capability. In this research the influence of two plants species (*Bromus tectorum* L. and *Festuca arundinacea*) with different amendments including arbuscular mycorrhizal fungi, alfalfa residues and nutrient solution on the degradation rate of petroleum hydrocarbons in soil were studied. The results showed that, The highest EC were found in mycorrhizae + alfalfa powder treatment (M+A) and there was not remarkable difference among the other treatments. Microscopic studies of the roots showed that both plants were able to make a symbiotic association with arbuscular mycorrhizal fungi in polluted soils. The mycorrhizal colonization percentage in the roots of both plants was significantly higher in (M+S) and (M+A) treatments. These increases in M+S and M+A treatments, compared to the C were 262.35% and 173.13% in *B. tectorum* L. and 197.88% and 464.87% in *F. arundinacea*, respectively. The shoot dry weight ranged These increases in M+S and M+A treatments, compared to the C were 209.94% and 164.21% in *B. tectorum* L. and 222.89% and 539.03% in *F. arundinacea*, respectively. *arundinacea*, being the lowest in C and the highest in M+A. The results showed that *F. arundinacea* in A and M treatments and both plants in M+S and M+A treatments decreased significantly TPH concentration in the soil compared to unplanted treatment. The most effective treatment in removing PHs from the soil was *B. tectorum* L. when treated with M+S and M+A, compared to the C, with the degradation rates of 83.27%. and 77.6%, respectively. The results showed that *F. arundinacea* in M+A treatments decreased significantly PAHs concentration in the soil compared to unplanted treatment. The most effective treatment in removing PAHs from the soil was *B. tectorum* L. when treated with M+S compared to the no plants and treatments, with the degradation rates of 82.97%.

Keywords

Phytoremediation, petroleum hydrocarbons, mycorrhizal fungi, *Bromus tectorum* L., *Festuca arundinacea*.



Faculty of Agriculture

M.Sc. Thesis in Soil Chemistry and Fertility

**Remediation of soils polluted to crude oil by Mycorrhizae and native plants in Khorram Abad
region**

By: Ebrahim hatami

Supervisor:

D.r: Ali Abbaspour

Advisor:

D.r: Vajiheh Dorostkar

January 2018