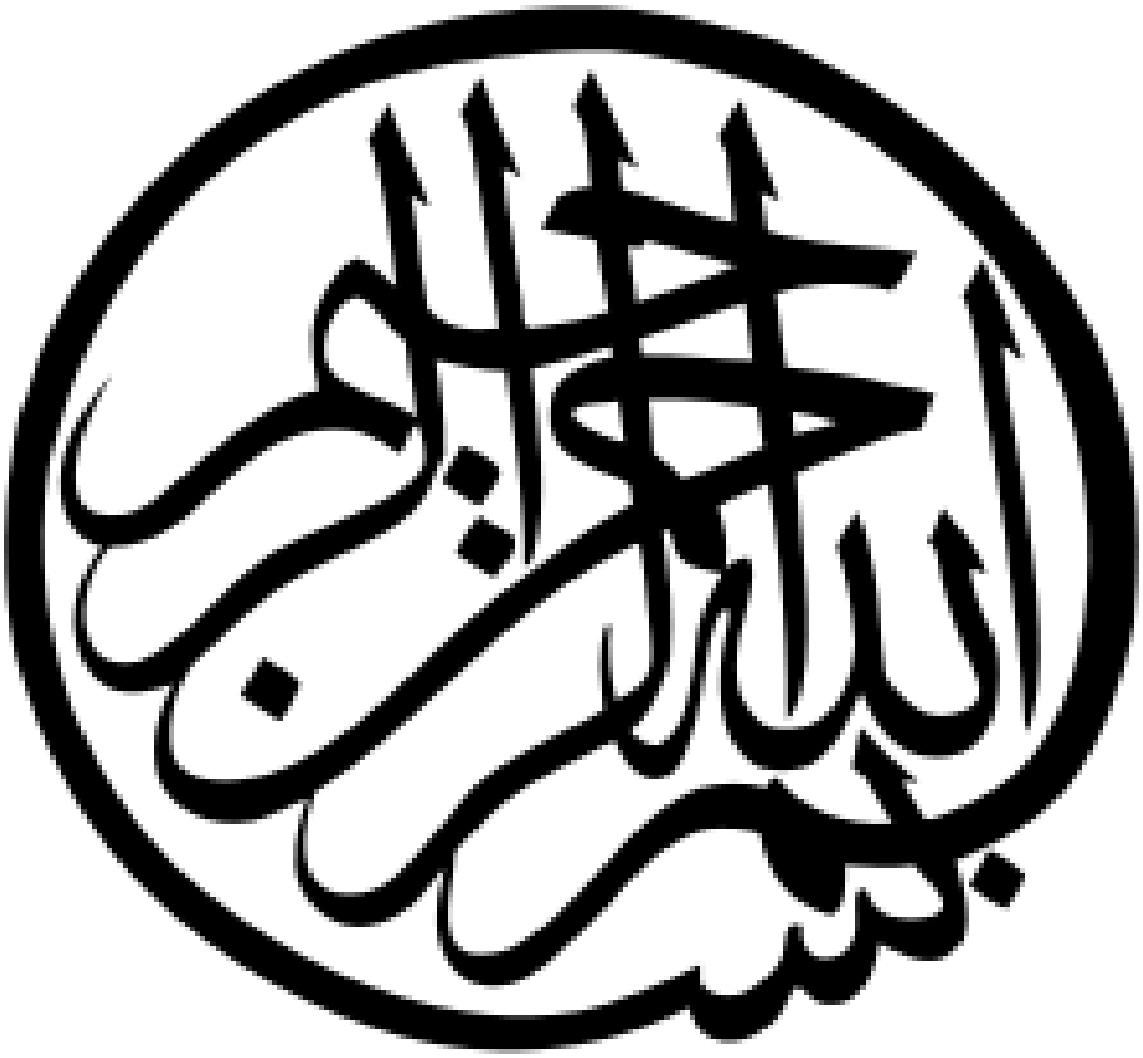


دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی و حاصلخیزی خاک

اصلاح خاک های آلوده به ترکیبات نفتی توسط بیوچار و دو گیاه بومی منطقه گچساران

نگارنده: فرشاد ظهرابی

استاد راهنما

دکتر علی عباسپور

استاد مشاور

دکتر وجیهه درستکار

دی ۱۳۹۶

شماره: ۳۹۴/ک
تاریخ: ۱۳۹۶/۱۱/۲۵

بسمه‌تعالی

مدیریت تحصیلات تکمیلی

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

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای فرشاد ظهرابی اصل با شماره دانشجویی ۹۴۱۱۶۴۴ رشته کشاورزی گرایش خاکشناسی تحت عنوان اصلاح خاک های آلوده به ترکیبات نفتی توسط بیوچار و دو گیاه بومی منطقه گچساران که در تاریخ ۱۳۹۶/۱۰/۳۰ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می‌گردد:

قبول (با درجه: عالی) ☑ مردود ☐

نوع تحقیق: نظری ☐ عملی ☐

عضو هیأت داوران	نام ونام خانوادگی	مرتبهٔ علمی	امضاء
۱ـ استادراهنمای اول	دکتر علی عباسپور	دانشیار	غایب
۲- استاد مشاور	دکتر وجیهه درستکار	استادیار	
۳- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر مهدی دلقندی	استادیار	
۴- استاد ممتحن اول	دکتر هادی قربانی	دانشیار	
۵ـ استاد ممتحن دوم	دکتر یاسر صفری	استادیار	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: دکتر محمد رضا عامریان

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

۹۶/۱۱/۲۵

تبصره: در صورتی که کسی مردود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود).

تقدیم به

صاحب دو عالم مولایمان مهدی صاحب الزمان.

روح پاک پدرم و برادرم، که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه زندگی ایستادگی را تجربه نمایم.

مادرم، دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهربود.

برادرانم، فرهنگ، خداداد، فردوس، خداکرم و مهدی عزیزم همسفران مهربان زندگیم که با هم آغاز کردیم در کنار هم آموختیم و به امید هم به آینده چشم می دوزیم. قلبم لبریز از عشق به شماست و خوشبختی تان منتهای آرزویم.

و خواهرانم که وجودشان شادی بخش و صفایشان مایه آرامش من است.

تشکر و قدردانی

سپاس و ستایش مر خدای را جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درفشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید. و سلام و دورد بر محمّد و خاندان پاك او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز...

خدا را بسی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا که این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. دوست خوبم که اگر برادر بگویم بهتر است پس تصحیح میکنم برادر عزیزم مهدی غلامی که مثل کوه در تمامی مراحل زندگی پشتم ایستاد نقش چراغی را در تاریکی برایم داشت تا خیلی از راه های زندگی را در کنار هم و با هم حرکت کنیم و تا همیشه امیدی باشد برای ادامه راه رسیدن به خدا در کنار همدیگه و ادامه مسیر زندگی مان پس از فارغ التحصیلی داشتن چنین دوستانی نعمتی بزرگ بوده و هست که خداوند را بی نهایت شاکرم که من را از داشتن این نعمت بی نصیب نگذاشت. آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند. به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند. برادرانم و خواهرانم که هر چه بگویم کم گفت پس سکوت میکنم و به بودنشان و داشتنشان افتخار میکنم. و تمامی دوستانم که اگه اسم ببرم شاید کسی از قلم بیافتد از تک تک دوستانم بی نهایت تشکر میکنم از تمامی کارکنان دانشکده کشاورزی و بخصوص آزمایشگاه خاکشناسی کمال تشکر را دارم از تمامی کسانی که به هر نحوی در نوشتن این پایان نامه کمکم کردند بی نهایت سپاسگذارم امیدوارم روزی خداوند توفیق به بنده حقیر برای جبران زحمات این عزیزان مرحمت بفرمایند.

تعهد نامه

اینجانب فرشاد ظهرابی آبده گاه دانشجوی دوره کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی_خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه اصلاح خاک های آلوده به ترکیبات نفتی توسط بیوچار و دو گیاه بومی منطقه گچساران تحت راهنمایی دکتر علی عباسپور متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده 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 شاهرودو یا « **SHahrood University of Technology** » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بودند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (بافت‌های آن) استفاده شده 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 اخلاقی انسانی رعایت شده است.

تاریخ

امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده)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:

آلوده شدن خاک به ترکیبات نفتی انباشت تدریجی آنها در محیط درایران از ابتدای استخراج نفت سلامتی منابع آب و خاک کشور را تهدید می کند. این تحقیق با هدف دستیابی به شیوه مؤثر زدودن آلودگی خاک‌های آلوده به مواد نفتی انجام شد. با توجه به ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی از بین انواع روش های پاکسازی، روش بیولوژیک انتخاب و در خاک مورد نظر به کار برده شد. در این آزمایش تاثیر تیمارهای بیوچار، قارچ آربوسکولار میکوریزا، و ترکیبی بیوچار به همراه میکوریز همراه با کشت دو گیاه شبدر و پنیرک و تیمار شاهد (عدم کشت گیاه) بر پالایش هیدرو کربن های نفتی ارزیابی شد. تحلیل داده‌های بدست آمده نشان داد که بالاترین عملکرد گیاه شبدر مربوط به تیمار قارچ میکوریزا بود. کشت این گیاه میزان هیدرو کربن‌های 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 بیوچار و قارچ میکوریز بود، کشت این گیاه میزان هیدرو کربن های نفتی را تا ۷۵ درصد در شرایط حضور بیوچار و قارچ و ۳۵ درصد در شرایط عدم وجود سایر مواد اصلاحی کاهش داده است. همچنین بررسی۱۶ ترکیب از آلکانها نشان داد که گیاه پنیرک به همراه بیوچار در تمامی ترکیبات نامبرده شده بیشترین میزان تجزیه را دارا بودند و نمونه شاهد بدون گیاه کمترین میزان تجزیه را نشان دادند.

واژه های کلیدی : آلودگی خاک، هیدروکربن های نفتی، بیوچار، قارچ آربوسکولار میکوریزا، شبدر، پنیرک.

مقالات:

- **اصلاح خاکهای آلوده به ترکیبات نفتی توسط دو گیاه بومی منطقه گچساران**

عنوان | فصل اول | صفحه

مقدمه ۲

هدف و ضرورت تحقیق ۹

۲-۱ هیدروکربنهای آروماتیک چندحلقه ای (PAHs) ۱۲

۲-۲ آلودگی و آلودگی خاک ۱۳

۲-۲-۱ منابع آلاینده‌ی خاک (لی نویر، ۲۰۱۶) ۱۳

۲-۲-۲ مشخصات نفت ۱۴

۲-۲-۳ آلودگی نفتی ۱۵

۲-۳ پاکسازی آلودگی نفتی ۱۵

۲-۳-۱ روشهای زیست پاکسازی آلودگیهای نفتی ۱۵

۲-۳-۱-۱ ریزجانداران ۱۶

۲-۳-۱-۲ گیاهان ۱۹

۲-۳-۲ روشهای دیگر پاکسازی آلودگی نفتی ۲۵

۲-۳-۲-۱ جانوران خاکزی ۲۵

۲-۳-۲-۲ افزایش کود و مواد اصلاح کننده ۲۵

۲-۳-۲-۳ سیستم فاز دوغابی ۲۶

۲-۳-۲-۴ مواد شوینده ۲۷

۲-۳-۲-۵ زمین پالایی ۲۸

۲-۳-۲-۶ روشهای تلفیقی ۲۹

۲-۳-۲-۷ استخراج بخارات آلاینده ۳۰

۲-۴ پنیرک ۳۰

۲-۵ شبدر ۳۱

۳-۱ تهیه ی خاک برای انجام پژوهش ۳۴

۳-۱-۱ خصوصیات خاک ۳۴

۳-۲- تهیه بیوچار برگ بلوط ۳۵

۳-۲ انتخاب گیاهان برای انجام زیست پالایی ۳۷

۳-۳ تهیه قارچ آربوسکولار مایکورایزا ۳۸

۳-۴ آزمایش گلدانی ۳۸

۳-۵ درصد تشکیل قارچ آربوسکولار مایکورایزا در ریشه ۳۹

۳-۶ روش اندازه گیری مقدار ترکیبات نفتی ۳۹

۳-۷ روش آنالیز PAH ۳۹

۳-۷-۱ اطلاعات دستگاه HPLC ۴۰

۳-۸ طرح مورد استفاده و تجزیه آماری ۴۱

۴-۱ وزن خشک گیاه ۴۴

۴-۲ هدایت الکتریکی و pH خاک ۴۹

۴-۳ درصد تشکیل هیف در ریشه ۵۱

۴-۴ میزان ترکیبات آلی نفتی..... ۵۴

۴-۵ میزان تجزیه هیدروکربنهای آروماتیک چند حلقه ای..... ۵۸

۵-۱ نتایج:..... ۷۶

۵-۲ پیشنهادها:..... ۷۷

فهرست منابع (فارسی و لاتین):..... ۷۹

فهرست جداول

جدول ۲ – ۱: ترکیبات موجود در نفت ۱٤

جدول۳-۱ برخی از خصوصیات خاک ترکیب شده آلوده به همراه خاک غیر آلوده مورد استفاده در این پژوهش ۳٦

جدول ۳-۲ خصوصیات خاک غیرآلوده مورد استفاده ۳۷

جدول ۳-۳ خصوصیات بیوچار برگ بلوط مورد استفاده ۳۷

جدول۴- ۱ تجزیه واریانس اثر تیمارها بر درصد تشکیل هیف، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی ٤٤

جدول ۴-۲- اثر اصلی اصلاح کننده بر هیف، ریشه و اندام هوایی ٤٦

جدول ۴-۳- اثر اصلی گیاه بر هیف، ریشه و اندام هوایی ٤٨

جدول۴- ۴ تجزیه واریانس برای میزان ترکیبات آلی نفتی، هدایت الکتریکی و pH خاک ٤۹

جدول ۴-۵- اثر اصلی اصلاح کننده بر میزان ترکیبات آلی نفتی، هدایت الکتریکی و pH خاک ٥۰

جدول ۴-۶- اثر اصلی گیاه بر میزان ترکیبات آلی نفتی، هدایت الکتریکی و pH خاک . ٥۰

پیوست ۱- جداول ۷۸

آرایش گلدان ها ۷۸

فهرست اشکال

شکل۴-۱- میزان رشد گیاه شبدر در پایان هفته هفتم (یک روز قبل از برداشت)، با تیمارهای مختلف: شاهد (C)، بیوچار (B)، قارچ میکوریز (M) و قارچ میکوریز+بیوچار (M+B)..... ۴۸

شکل۴-۲- میزان رشد گیاه پنیرک در پایان هفته هفتم (یک روز قبل از برداشت)، با تیمارهای مختلف: شاهد (C)، بیوچار (B)، قارچ میکوریز (M)، قارچ میکوریز+بیوچار (M+B)..... ۴۸

شکل ۴-۳- تأثیر گیاه و ماده اصلاحی بر درصد تشکیل هیف حروف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها است (P<0.05)..... ۵۲

شکل۴-۴- ریشه های درهم تنیده هیف در گیاه پنیرک به همراه اصلاح کننده قارچ میکوریز، تصویر سمت راست (A) و تصویر سمت چپ (B) گیاه پنیرک فاقد اصلاح کننده در خاک آلوده به ترکیبات نفتی می باشد..... ۵۲

شکل۴-۵- ریشه های درهم تنیده هیف در گیاه شبدر به همراه اصلاح کننده قارچ میکوریز، تصویر سمت راست (A) و تصویر سمت چپ (B) گیاه شبدر فاقد اصلاح کننده در خاک آلوده به ترکیبات نفتی می باشد..... ۵۳

شکل۴-۶- تأثیر گیاه و ماده اصلاحی بر غلظت ترکیبات آلی نفتی در کیلوگرم خاک، حروف مشترک غیرمعنی داربودن و حروف غیرمشترک معنی دار بودن را در سطح ۵ درصد نشان می دهند (P<0.05)..... ۵۶

شکل۴-۷: کروماتوگرافی نمونه شبدر به همراه اصلاح کننده قارچ..... ۵۹

شکل۴-۸: کروماتوگرافی نمونه شبدر..... ۵۹

شکل۴-۹: کروماتوگرافی نمونه پنیرک..... ۶۰

شکل۴-۱۰: کروماتوگرافی نمونه پنیرک به همراه اصلاح کننده بیوچار..... ۶۰

شکل۴-۱۱: کروماتوگرافی نمونه شاهد..... ۶۱

شکل ۴-۱۲- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (بنزو (ghi) پریلن و دی بنزو (a) آنتراسن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک ، شبدر و شاهد..... ۶۳

شکل ۴-۱۳- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (بنزو (b) فلورانتن، بنزو (k) فلورانتن، بنزو (a) پایرن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک ، شبدر و شاهد..... ۶۴

شکل ۴-۱۴- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (بنزو (a) آنتراسن، کرایسن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد..... ۶۵

شکل ۴-۱۵- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (فلورانتن و پایرن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد..... ۶۷

شکل ۴-۱۶- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (فلورن، فنانترن و آنتراسن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد..... ۶۸

شکل ۴-۱۷- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد..... ۷۰

فصل اول

مقدمه

مقدمه

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 و یا سرریز از مخازن ذخیره آن، تصادف خودروهای حامل ترکیبات نفتی و یا ترکیبات مشتق شده از آن و یا رهاسازی ضایعات و پسماندهای پالایشگاه‌ها در محیط زیست اشاره کرد (محمدی سیچانی و همکاران، ۲۰۱۷).

نفت خام ترکیب پیچیده ای از هزاران ترکیب هیدروکربنی و غیر هیدروکربنی از جمله فلزات سنگین است که بر خواص فیزیکی و شیمیایی خاک تاثیر گذاشته، سبب چسبندگی و اتصال ذرات خاک شده و به دنبال سخت و غیرقابل نفوذ شدن خاک، انتشار اکسیژن به داخل خاک را مختل می-کند (پنگ و همکاران، ۲۰۰۹). تهویه ناقص ناشی از جایگزین هوای خاک با نفت سبب فعالیت میکروارگانیسم های غیرهوازی، اختلال در توازن آب در سیستم خاک – گیاه، سمیت ناشی از سولفیدها و زیادی منگنز آزاد شده در تجزیه هیدروکربن ها می‌شود (آنیگ بر و تنکاری، ۲۰۰۸). این اختلالات منجر به تغییرات خواص فیزیکی، مورفولوژیکی و شیمی خاک شده که در نتیجه آن مقدار نیترات، فسفر قابل دسترس و کلسیم کاهش می یابد (چوپاخین و ماسلینیکو، ۲۰۰۴). همچنین نفت خام می تواند در بافت گیاه نفوذ کرده و وارد فضاهای درون سلولی شود. غشای سلولی به دلیل نفوذ هیدروکربن ها آسیب می بیند که منجر به نشت محتویات درون سلول می شود (باکر، ۱۹۷۰).

اثرات شیمیایی ناشی از عملکرد نفت و ترکیبات آن مثل فلزات سنگین، هیدروکربن‌های چند حلقه ای آروماتیک توسط محققین مختلف مورد بررسی قرارگرفته است (مدیک و همکاران، ۲۰۰۷). تغییرات شیمیایی گیاهان در حضور نفت خام شامل ذخیره و تجمع فلزات سنگین، کاهش کلروفیل، پروتئین، کارتنوئیدها و افزیش آمینواسیدها می‌باشد (پریتیموکلارک و آچوبا، ۲۰۰۷).

افزایش سریع مصرف منابع فسیلی به ویژه نفت و به تبع آن رسوخ آلودگی ها از کشتی های حمل نفت، لوله های نفتی و یا پساب های صنعتی پالایشگاه ها و صنایع شیمیایی آلاینده محیط زیست، منابع آب و خاک را با تهدید جدی مواجه ساخته است. در حالت طبیعی پس از نشت آلودگی نفتی، فعالیت میکروارگانیسم های بومی و یا عواملی همچون فوتواکسیداسیون، منجر به حذف آلودگی می‌شود. اما با سرعتی که این آلاینده‌ها به منابع آب و خاک راه پیدا می‌کنند عوامل طبیعی دیگر قادر به زدودن آن‌ها نیستند. از این رو در قرن بیست و یکم نگرانی جامعه بشری از به هم خوردن چرخه طبیعی حیات کره زمین و تخریب و از دست رفتن منابع خاک و آب بیش از پیش افزایش یافته است. در کشور نفت خیز مثل ایران، کم‌توجهی به پیامدهای مخرب زیست محیطی ناشی از استحصال و پالایش نفت، باعث آلودگی بخش‌هایی از منابع خاک و آب به هیدروکربن های نفتی به ویژه در جنوب کشور شده است. لذا اتخاذ یک استراتژی صحیح جهت از بین بردن این مشکل برای دستیابی به توسعه پایدار ضروری است. بدون شک این استراتژی باید مبتنی بر شناخت دقیق امکانات و شرایط موجود بوده و تا حد ممکن کمترین ریسک را در بهم زدن تعادل محیط زیست داشته باشد (عنایت زاده، ۱۳۸۵).

رشد عظیم صنایع و استفاده از ترکیبات آروماتیک بی‌شمار در رنگ‌ها، مواد قابل انفجار، مواد دارویی و آفت‌کش‌ها در محیط منجر به آلودگی جدی شده است. پاک‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی از سال‌های گذشته مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعدد برای مقابله با آلودگی‌های نفتی در خاک وجود دارد که بسیاری از آن‌ها به سبب هزینه بالا و اثرات مضرجانبی، کمتر استفاده می‌شوند. برخی از فناوری‌های پاک سازی خاک عبارت‌اند از: استخراج بخارات از خاک، شستشوی خاک، تثبیت و جامدسازی، روش‌های الکتروشیمیایی، پاک‌سازی زیستی و گیاه پالایی (لرستانی، ۱۳۹۵).

در سال‌های اخیر به روش‌های زیستی نظیر گیاه‌پالایی[۱] توجه بیشتری شده است. گیاه‌پالایی فناوری جدیدی است که در آن از گیاهان مقاوم برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده های آلی، معدنی و ترکیبات خطرناک محیط زیست از جمله فلزات سنگین، مواد نفتی و علف‌کش‌ها استفاده می‌شود (پالفورد و واتسون، ۲۰۰۳). گیاهان دارای خصوصیات بسیار زیاد وراثتی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی هستند که آن‌ها را عاملی مناسب برای اصلاح خاک و آب می‌کند. واژه‌ی گیاه‌پالایی شامل پیشوند یونانی *Phyto* به معنی گیاه و ریشه‌ی لاتین *remedium* به معنی اصلاح یا حذف یک عامل مزاحم و خارجی می‌باشد (تقی زاده و کافی، ۱۳۸۷).

گیاه‌پالایی واژه جامعی است که از سال ۱۹۹۱ برای استفاده از گیاه جهت کاهش میزان، تحرک، سمیت آلاینده از خاک و آب‌زیرزمینی و یا دیگر محیط‌های آلوده استفاده شده است (ایتیم، ۲۰۱۲). گیاه‌پالایی یک فناوری نسبتاً نوین پالایش خاک‌های آلوده است که در آن از گیاهان مقاوم و مناسب جهت حذف یا کاهش غلظت آلاینده‌های معدنی، رادیواکتیو و آلی به ویژه ترکیبات نفتی از محیط زیست استفاده می شود (پالفورد و واتسون، ۲۰۰۳). در واقع گیاهان قادرند از طریق رهاسازی عناصر غذایی و ترشح ترکیبات مختلف از جمله اسیدهای آلی و ترکیبات قندی در خاک و نیز انتقال اکسیژن به ناحیه ریشه خود موجب تحریک و افزایش فعالیت جمعیت میکروبی تخریب کننده آلاینده‌های نفتی شوند (لی و همکاران، ۲۰۰۲). گیاه‌پالایی، واژه‌ای بادایره و معنای گسترده است که چندین فرایند مختلف را در بر می‌گیرد، برای نمونه می‌توان فرآیند تحریک گیاهی[۲] را نام برد. فرآیند تحریک گیاهی را روش مؤثری در پالایش بسیاری از آلاینده‌های آلی نظیر هیدروکربن‌های نفتی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (*PAHs*)[۳] ، آفت‌کش‌ها، حلال‌های کلرینه و پلی‌کلرینیت بای فنیل‌ها (*PCB*)[۴] ، معرفی کرده‌اند (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۵).

---

۱ - phytoremediation)

۲-lationtimutosphy

۳-Polycyclice Aromatik Hydrocarbons

۴-nylesBiphetedrinaPolychlo

امروزه استفاده از گیاهان سبز بر اساس توانایی بالای آن‌ها در انباشت عناصر و حذف ترکیبات مضر از محیط و متابولیزه کردن آن‌ها به مولکول‌های متنوع، کاربرد فراوان دارد (گرهاردت، ۲۰۰۹). فلزات سنگین و آلودگی‌های آلی، اهداف اصلی گیاه‌پالایی می‌باشند. اولین بار (آدام و دانکن، ۲۰۰۲) نقش گیاهان را در پالایش آلودگی هیدروکربن‌های نفتی به دنبال بررسی تاثیر سوخت دیزلی بر جوانه‌زنی کتان مطرح نمودند. گیاهان بطور غیرمستقیم از طریق تغییر دادن شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک، افزایش تهویه و فراهم کردن اکسیژن جهت تجزیه ترکیبات نفتی در کاهش آلودگی-های نفتی مؤثر می‌باشند. همچنین گیاهان با انباشت ترکیبات فوق در زیست توده خود، به طور مستقیم نیز خاک را از ترکیبات آلی پاک می‌کنند (سینق و جان، ۲۰۰۳). بیشتر تحقیقات گیاه‌پالایی، به سمت استفاده از لگوم‌ها که تثبیت‌کننده نیتروژن هستند گرایش دارند (تانی و آکونی، ۲۰۰۹). گونه‌های گیاهی زیادی به آلودگی‌های از نوع TPH (غلظت ترکیبات نفتی کل) حساس هستند، بنابراین گیاهان روی خاک‌های آلوده یا رشد نمی‌کنند یا رشدشان کند است (بوپاثی، ۲۰۰۴). همچنین برخی گیاهان نسبت به بقیه مقاومت بیشتری به آلودگی نفتی دارند (اویانگ و همکاران، ۲۰۰۵). موفقیت گیاه‌پالایی تا حد زیادی به گونه گیاهی و سن گیاه، قابلیت دسترسی آلاینده‌ها و مواد غذایی وابسته است (لی و همکاران، ۲۰۰۸). از طرف دیگر سطوح نفت خام کمتر از حدود ۱ درصد ممکن است رشد و باروری گیاه را افزایش دهد (اویانگ و همکاران، ۲۰۰۵). در سال‌های اخیر پیشرفت قابل توجهی در گسترش گیاهان بومی و اصلاح شده برای درمان آلودگی‌های محیطی بدست آمده است (لیسته و فلگنترو، ۲۰۰۶).

استفاده از گیاه‌پالایی مزایای متنوعی دارد. این روش دوست دار طبیعت است. فرآیندی نسبتاً ساده و اقتصادی است و انتقال فرسایشی خاک آلوده را خنثی می‌کند (اویانگ و همکاران، ۲۰۰۵). عناصر جذب شده توسط گیاهان ممکن است از زیست توده گیاه بیرون کشیده شود و سپس دوباره بازگردانده شوند. گیاه‌پالایی می‌تواند برای انواع زیادی از آلودگی‌ها بکار رود و با جلوگیری از نشت آن‌ها به سیستم‌های آب‌های زیرزمینی، ورود آلودگی‌ها را به محیط کاهش دهد (ویلک، ۲۰۰۷).

همچنین این روش از نظر زیبایی شناختی نیز یک فن‌آوری زیبا محسوب می‌شود (اویانگ و همکاران، ۲۰۰۵).

زیست‌پالایی نیز یکی از روشی مفید و مؤثر در اصلاح خاک‌های آلوده می‌باشد. در این روش کنترل، کاهش یا حذف آلودگی از محیط زیست با استفاده از فعالیت بیولوژیکی صورت می‌گیرد. در این روش ریز جانداران از مواد هیدروکربنی به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کرده و آن‌ها را به آب و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌نماید، 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).

به منظور کسب موفقیت در گیاه‌پالایی آلاینده‌های نفتی از خاک و دستیابی به بیشترین کاهش غلظت این ترکیبات از خاک، انتخاب گیاه یا گیاهان مناسب (کشت همزمان دو یا چند گیاه) که قابلیت رشد و سازگار شدن با محیط آلوده را داشته باشند ضروری است (زو و همکاران، ۲۰۰۵). در واقع انتخاب گیاهان مقاوم به آلاینده‌های موجود با حداکثر جوانه‌زنی، رشد و نمو و سطح ویژه ریشه که نقش مؤثری بر کاهش غلظت ترکیبات نفتی داشته باشند بسیار واجد اهمیت است (آدام و دانکن، ۲۰۰۲). از سوی دیگر غلظت آلاینده‌ها در خاک (نسبت اختلاط خاک آلوده با خاک غیرآلوده) نیز در استقرار پوشش گیاهی و گیاه‌پالایی آلاینده‌های نفتی تأثیرگذار است (زو و جانسون، ۱۹۹۷).

تاکنون مطالعات متعددی در مورد جنبه‌های مختلف زیست‌پالایی خاک‌های آلوده انجام شده و جنبه‌های متفاوتی از آن مورد توجه قرار گرفته است (اکبرپور سراسکانرود و همکاران، ۱۳۹۱). در سال‌های اخیر در ایران نیز پژوهش‌هایی چند در ارتباط با موضوع پالایش گیاهی انجام شده است. برخی از این پژوهش‌ها به ارزیابی و شناسایی گونه‌های مختلف گیاهی پرداخته‌اند (مظهری و همکاران، ۲۰۱۲).

پالایش TPH پایدار از خاک‌ها به طورکلی فرآیندی گران و کند است. اما امروزه روش‌های زیستی بدلیل ساده بودن تکنولوژی، دوست‌دار بودن طبیعت، امکان استفاده هم‌زمان با سایر روش‌های فیزیکی و شیمیایی، پایین بودن هزینه‌های جاری اولیه، امکان تخریب و تخفیف آلاینده‌ها بدون عوارض جانبی و عدم نیاز به تجهیزات تخصصی، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (اورتگا و همکاران، ۲۰۰۳). میکروارگانیسم‌ها هیدروکربن‌ها را تخریب می‌کنند و کربن را به عنوان منبع انرژی برای رشد خود استفاده می‌کنند (لیسته و پراتز، ۲۰۰۶). این تکنیک می‌تواند در درمان خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفت خام مؤثر واقع شود (الزالزاله و شبیر، ۲۰۰۴).

یکی از ریزجانداران مؤثر در زیست‌پالایی قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا می‌باشند. واژه میکوریز اولین بار از سوی فرانک در سال ۱۸۸۵ ارائه شده است. میکوریز 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 (لینر و همکاران، ۲۰۱۶آ). مکانیسم‌های که توسط همزیستی قارچ آربوسکولار مایکورایزا با گیاه میزبان ایجاد می‌شود باعث کاهش تنش خشکی در گیاه میزبان و تغییر در خواص مشخصه آب خاک می‌شود. گیاهانی که با قارچ میکوریزا در ارتباط هستند

تنظیم اسمزی بهتر، تبادل گاز بیشتر، راندمان مصرف آب بالاتر و حفاظت مناسب‌تری در برابر خشک‌سالی و آسیب‌های اکسیداتیو مناسب‌تری دارند (بلان، ۱۹۹۱).

ایجاد پوشش گیاهی در خاک‌های آلوده به دلیل سمیت بالای آلاینده‌ها اغلب دشوار است. در خاک‌های آلوده کم بودن غلظت مواد غذایی، کمبود آب، تخریب جوامع میکروبی و ساختار فیزیکی ضعیف رشد گیاه را با دشواری‌هایی همراه می‌سازد. از این رو، گیاه‌پالایی به همراه کودهای بیولوژیکی مانند قارچ آربوسکولار میکوریزا می‌تواند پتانسیل گیاه‌پالایی را افزایش دهد (لینر، ۲۰۱۶ب).

میکوریزا می‌تواند زیست توده گیاه را در خاک‌های آلوده به آلاینده‌ها افزایش دهد و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر آلاینده‌های خاک شود (لینر و همکاران، ۲۰۱۶ب؛ لینر و همکاران، ۲۰۱۶آ). این قارچ‌ها با ترکیب مواد موجود در دیواره سلولی، مانند کیتین، بافلزات سنگین موجود درخاک، مانند روی، کادمیوم و سرب، باعث تثبیت و بی‌اثر شدن این عناصر در خاک می‌گردند (ووگل- میکوس و همکاران، ۲۰۰۶). موجودات زندهٔ ذره‌بینی به عنوان ابزار مناسب برای تخریب آلاینده‌ها بوده، زیرا که آنها آنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که به آنها اجازه می‌دهد که از آلاینده‌ها به عنوان منبع غذایی استفاده کنند، از طرف دیگر به خاطر اندازه کوچک و سطح ویژه بالا براحتی با این آلاینده‌ها تماس پیدا می کنند. قارچ مایکورایزا به عنوان قارچ همزیست گیاهان خانواده لگوم نقش مهمی را در جذب آب، فسفر و دیگر عناصر غذایی توسط گیاه ایفا می‌کند تحقیقات اخیر نشان دهنده نقش قارچ مایکوریزا در گیاه‌پالایی به واسطه بهبود و تسریع رشد گیاه در خاک‌های آلوده و افزایش نسبت تجزیه آلاینده‌ها است (هارب هاجان سینگ، ۲۰۰۵).

در مورد محاسن و مزایای روش‌های زیستی می‌توان گفت که این روش‌ها در مقایسه با فرایندهای فیزیکی و شیمیایی به هزینه کمتری نیاز دارد. ساده‌تر بودن. تصفیه می‌تواند به صورت در محل یا با حداقل فاصله از منطقه آلوده صورت گیرد، که باعث می‌شود ترکیبات فرار کمتری در محیط پخش شوند. حداقل بودن تخریب منطقه و پایداری آلاینده‌ها و احتمال حضور طولانی مدت آن‌ها را

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

یکی دیگر از مواد اصلاحی مورد استفاده در بهبود کارایی گیاهان مورد استفاده در پالایش خاک‌های آلوده بیوچار است. بیوچار کربن غنی شده می باشد که بر اثر حرارت بیش از ۲۵۰ درجه سانتی گراد ماده‌ی آلی در محیط با اکسیژن محدود (ترجیحا بدون اکسیژن) بدست می آید. این ماده توانایی باقی ماندن طولانی مدت در خاک را دارا می باشد (باستوس و همکاران، ۲۰۱۴). بیوچار را می‌توان تقریباً از هر نوع زیست توده‌ای از جمله بقایای گیاهی، تراشه‌ی چوب، کود و ضایعات حیوانی، فاضلاب و زباله‌های شهری و صنعتی به دست آورد. در فرایند تجزیه‌ی حرارتی مواد آلی علاوه بر بیوچار، حرارت، گاز زیستی (مونواکسیدکربن، هیدروژن، متان) و روغن زیستی تولید می‌گردد. استفاده از بیوچار قدمت حداقل ۲۰۰۰ ساله دارد (اونیل و همکاران، ۲۰۰۹).

به طور کلی از فواید بیوچار می‌توان به کاهش اثر تغییرات آب و هوا، تولید انرژی، مدیریت بقایا و مزایای زراعی آن اشاره نمود. مزایای زراعی بیوچار شامل بهبود حاصلخیزی خاک از طریق تأثیر بر ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت تبادل یونی می‌باشد که سبب افزایش تولید محصول می‌شود. افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک را به ساختار بسیار متخلخل بیوچار نسبت می‌دهند. مساحت سطح داخلی ذغال را که در درجه حرارت ۱۰۰۰-۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمده را ۴۰۰-۲۰۰ متر مربع بر گرم برآورد کرده‌اند. همچنین بیوچار دارای میزان بالایی از خلل و فرج در محدوده ۵۰-۰/۲ میکرومتر می باشد (اوگاوا و همکاران، ۲۰۰۶).

هدف و ضرورت تحقیق

میدان نفتی شهرستان گچساران دومین میدان بزرگ تولید کننده نفت ایران است، این میدان بطور متوسط روزانه ۴۸۰ هزار بشکه نفت خام تولید می کنند. و از آنجا که نشت نفت از لوله‌های انتقال نفت، سریز از مخازن ذخیره نفت باعث آلودگی خاک و منابع آب‌های زیر زمینی شده و برای مردم منطقه بخصوص کشاورزان مشکلات زیادی را به وجود آورده که باعث غیر قابل استفاده شدن این

زمین ها شده، در دهه اخیر مطالعات زیادی در خصوص استفاده از انواع روش‌های مختلف تصفیه خاک‌های آلوده به مواد نفتی انجام شده است. در این راستا، باتوجه به وجود گیاهان بومی مقاوم به ترکیبات نفتی و درختان بلوط فراون در این شهرستان هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر منفرد و تلفیقی چندین سیستم زیستی پاکسازی آلودگی هیدروکربنی و عناصر سنگین خاک‌های آلوده، یافتن گیاهان اصلاح کننده بومی منطقه با خاصیت زیست‌پالایی و انتخاب نوع مناسب آن با توجه به زیست بوم، به‌عنوان راهی عملی و پایدار جهت استفاده در خاک‌های آلوده در حذف و پالایش هیدروکربن‌های نفتی از خاک می‌باشد. همچنین اثر آرباسکولار مایکورایزا و بیوچار نیز بر رشد گیاهان مورد استفاده در گیاه‌پالایی و کاهش میزان آلودگی در منطقه مورد بررسی قرار گرفته است.

فصل دوم

مروری بر پژوهش های پیشین

۲-۱ هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs)

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) گروهی از ترکیبات آلی هستند که دارای دو یا تعداد بیشتری حلقه آروماتیک، مرکب از اتم های کربن و هیدروژن می‌باشد این ترکیبات از "نفتالن" با دوحلقه شروع شده و به "کرونین" با هفت حلقه ختم می‌شوند. آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا (USEPA)، ۱۶ ترکیب PAHs را به عنوان سرطان‌زاهای احتمالی برای انسان معرفی کرده است. به طور عمده، این ترکیبات از جمله عوامل سرطان‌زا، موتاژن‌زا و آلاینده محیط زیست هستند. در این میان بنزو (a) پایرن خاصیت سرطان‌زایی بسیار بالایی دارد. آنها ترکیباتی هستند که از احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی تشکیل می‌شوند. امکان سنتز این ترکیبات با باکتری‌ها، جلبک‌ها و گیاهان نیز وجود دارد. ترکیبات PAHs حلالیت نسبتاً کمی در آب و میل شدیدی به جذب در ذرات معلق و رسوبات داشته و با نور ماوراء بنفش خورشید تجزیه می‌شوند. در مجموع، بیش از ۱۰۰ ترکیب شناسایی شده که ۱۶ ترکیب از آنها بر اساس گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی و EPA از بقیه مهمترند. منشاء ترکیبات PAHs در محیط زیست، عوامل طبیعی و انسان است. منشاء ورود ترکیبات PAHs به محیط‌های آبی نیز انواع فاضلاب‌ها می‌باشد. جابجایی ترکیبات PAHs در آب بر اثر ذرات معلق، سیل و فرآیند پالایش صورت می‌گیرد (طراوتی، ۱۳۷۲). بیشترین مقدار PAHs به دلیل احتراق ناقص ترکیبات آلی طی فرآیندهای صنعتی و سایر فعالیت‌های انسان در محیط زیست آزاد می شود. مهمترین منابع آنها شامل: احتراق زغال سنگ، نفت خام و گاز طبیعی برای مقاصد صنعتی و هم خانگی می‌باشد. صنایع نفتی دور از ساحل و درهم شکستن نفت‌کش‌ها منابع مهم PAHs در بعضی از مناطق هستند. آتش سوزی جنگل‌ها که امکان دارد در نتیجه فعالیت انسان و یا عوامل دیگر باشد، منبع مهم و معمولاً غیرقابل پیش‌بینی PAHs است. به طور کلی، آلودگی زیست محیطی، نه فقط با یک ترکیب، بلکه، با مخلوطی از PAHs متعدد صورت می‌گیرد (اسماعیلی، ۱۳۸۱).

۲-۲ آلودگی و آلودگی خاک

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. این تغییرات اجزای تشکیل دهنده محیط زیست و منافع و حیات موجودات زنده را به طور مستقیم یا غیرمستقیم به مخاطره می‌اندازد (جاناس و زاوادزکا، ۲۰۱۷). خاک توده‌ای بی‌جان نیست و علاوه بر مواد معدنی، آلی، هوا و آب، موجودات زنده همانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و کرم‌های خاکی نیز در آن وجود دارند. ورود هر آلاینده به داخل خاک که حیات این موجودات را به خطر بیندازد آلودگی نامیده می‌شود. این موجودات در خواص شیمیایی خاک، تغذیه گیاه و خواص فیزیکی خاک بسیار مؤثرند. باید میان موجودات زنده‌ی خاک و محیط زیست 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 در نهایت کاهش سطح حاصلخیزی خاک شود. در سال‌های اخیر، اقدامات گوناگون برای افزایش تولید در صنعت و کشاورزی از جمله افزایش استفاده از کودهای شیمیایی، سموم دفع آفات نباتی، علف‌کش‌ها، فاضلاب‌های صنعتی و شهری جهت آبیاری صورت گرفته است که موجب آلودگی خاک‌ها و در نتیجه از بین رفتن موجودات زنده و کاهش توان تولید آن‌ها شده است. متاسفانه آلودگی خاک به شکل مستقیم یا غیرمستقیم سلامتی انسان، حیوان و سایر موجودات زنده را تهدید می‌کند (دبیری، ۱۳۸۹).

۲-۲-۱ منابع آلاینده‌ی خاک (لی نویر، ۲۰۱۶)

از منابع آلوده کننده خاک می‌توان به مواد زائد، فاضلاب‌ها، مواد نفتی، فلزات سنگین (آرسنیک، کادمیم، نیکل، سرب، کروم، روی و ...)، سموم شیمیایی و علف‌کش‌ها (حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها) و کودهای شیمیایی اشاره کرد.

۲-۲-۲ مشخصات نفت

نفت خام به انگلیسی *Crude Oil* نامیده می‌شود که درحالت طبیعی به صورت مایع بوده و رنگ آن قهوه‌ای زرد مایل به سیاه است (لی نویر، ۲۰۱۶).

هر قدر مواد نفتی به عمق بیشتری از خاک نفوذ کند رفع آلودگی آن مشکل‌تر خواهد بود (افیونی و خوشگفتارمنش، ۱۳۸۵). 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، که درصد این عناصر در جدول ۲-۱ نشان داده شده‌اند (لارسون، ۱۹۶۷).

جدول ۲ – ۱: 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
نیتروژن	۰/۱	۱/۵

نفت خام، ترکیب ناخالصی از همه‌ی مشتقات نفت است. ترکیبات اصلی نفت خام کربن و هیدروژن است که در حالت ترکیب شده تحت عنوان هیدروکربن ها شمرده می‌شوند. در یک حالت گسترده‌تر آنها به دو خانواده آلیفاتیکها و آروماتیکها تقسیم می‌شوند. آلیفاتیکها اصولا به سه گروه اصلی تقسیم شده‌اند که شامل: آلکانها، آلکنها و سیکلوآلکانها می‌باشند. آلکینها نوع دیگری از ساختار آلیفاتیکها هستند که عموماً در هیدروکربنهای نفت یافت نمی‌شوند. در هنگام فرایند پالایش، محصولات نفتی شدیداً با هیدروکربنها غنی می شوند و مواد معدنی و انواع دیگری از ترکیبات آلی که

از سولفور، نیتروژن و اکسیژن برخوردارند در پسماندهای نفت باقی می‌مانند (مارانهو و همکاران، ۲۰۰۹).

۲-۲-۳ آلودگی نفتی

یکی از آلاینده‌های خاک، ترکیبات نفتی می‌باشند، که متداول‌ترین آن‌ها شامل نفت، گازوئیل، حلال‌های کلردار، *BTEX* (بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن)، *PHA* (پلی هیدروآروماتیک حلقوی) می‌باشند. در واقع فرآورده‌های نفتی در خاک، تهدیدی جدی و گسترده برای هوا، آب‌های زیرزمنی، کیفیت خاک و میکروارگانیسم‌های گیاهی و جانوری است، بنابراین، پالایش خاک‌ها، رسوبات و آب‌های آلوده به نفت، یک چالش جدی و اساسی برای محققان محیط زیست است (ایرانمنش و همکاران، ۱۳۸۸).

آلودگی خاک‌ها به هیدروکربن‌های نفتی *(TPHs)* یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست محیطی در برخی از نقاط کشور به ویژه در اطراف پالایشگاه‌های نفت می‌باشد. آلاینده‌های نفتی در خاک، سبب بروز سمیت برای انسان و سایر موجودات زنده شده و موجبات آلودگی آب‌های زیرزمینی و سطحی را فراهم می‌آورد (افیونی و خوشگفتارمنش، ۱۳۸۵).

۲-۳ پاکسازی آلودگی نفتی

۲-۳-۱ روش‌های زیست پاک‌سازی آلودگی‌های نفتی

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 (اسکاکولفورد و همکاران، ۱۹۹۸). روش‌های مختلفی برای پالایش خاک‌های آلوده به نفت مورد استفاده قرار می‌گیرد که در بین این روش‌ها استفاده از ریزجاندارن و گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار است.

۲-۳-۱-۱ ریزجانداران

بشر از دیرباز از سیستم‌های بیولوژیکی استفاده می‌کرده 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 میکروارگانیسم‌ها در سال ۱۹۵۸ توسط باکاماسکاز بر 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 اریتروژنز را به عنوان عامل مؤثر در تجزیه نفت معرفی نمودند. میکروارگانیسم‌هایی که می‌توانند آلکان‌ها را در مراحل مختلف به اسیدهای کربوکسیلیک تبدیل کنند و برخی از هیدروکربن‌ها را به عنوان منبع کربن تنها و انرژی استفاده کنند در همه‌جا حاضر هستند (خسروی نوده و همکاران ۱۳۹۱).

ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۲) در طی پژوهشی غربالگری باکتری‌های تجزیه کننده ترکیبات نفتی را از نمونه‌های آلوده به نفت منطقه بوشهر در محیط کشت بدون کربن آلی انجام دادند. در این پژوهش، ۱۹ سویه باکتری گرم منفی به نام های *PDB1-19* از نمونه خاک آلوده به مواد نفتی جداسازی شد و شناسایی جدایه‌ها با بهره گیری از کیت‌های تشخیصی و روش مولکولی انجام شد. جدایه‌ها شامل جنس ها و گونه های باکتریایی *Stenotrophomonas maltophilia*، *Ralstonia sp.*، *Pseudomonas aeruginosa.*، *Zymomonas sp.*، *Sphingobacterium sp.*، *Vibrio sp.*، *Acinetobacter johnsonii.*، *Achromobacter xylosoxidans.*، *Pantoea sp.*، *Paracoccus sp.*، *Pseudomonas stutzeri* و *Chryseobacterium sp.* می باشند. کارایی این سویه‌ها در ارلن‌های دارای محیط کشت مایع حداقل، با حذف هرگونه منبع کربن و بهره‌گیری از گازوئیل به عنوان منبع کربن و انرژی، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با کاربرد دو تکرار بررسی شد. در این بررسی تیرگی محیط کشت مایع در طول موج ۶۰۰ *nm* در زمان های ۰، ۴۸، ۱۶۸، ۲۱۶ و ۳۱۲ ساعت سنجیده شد و به عنوان شاخص رشد باکتری و تجزیه گازوئیل توسط باکتری اندازه‌گیری شد. آنالیز

آماری نشان داد که فاکتورهای آزمایشی مانند سویه باکتری، زمان و اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد معنی دار می باشد. این باکتری‌ها توانستند در حضور ترکیب‌های نفتی همانند گازوئیل به صورت چشم‌گیری رشد نمایند و از میان سویه‌های باکتری، سویه *Chryseobacterium sp.* اختلاف معنی‌داری با دیگر سویه‌ها از لحاظ رشد در حضور گازوئیل داشت و با گذشت زمان (اندازه‌گیری پنجم) رشد آن بیشتر شد، نتایج اثر متقابل باکتری و زمان نیز نشان دهنده این یافته بود.

لیانگی و هونگچن (۲۰۰۹) گزارش کردند که باکتری‌های *Pseudomonas stutzeri* و *Pseudomonas aeruginosa* قادر به تجزیه زیستی فنانترن می‌باشند و باکتری‌های *Stenotrophomonas maltophilia* و *Pseudomonas alcaligenes* قادر به تجزیه فلورانتن هستند. سوزئو و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که باکتری از جنس *Achromobacter sp.* و *Chryseobacterium sp* قادر به تجزیه زیستی کربازول می باشند و باکتری *Pseudomonas stutzeri* قادر به تجزیه پیرن، باکتری *Ralstonia* قادر به تجزیه نفتالین و دی‌بنزوآنتراسن می‌باشد.

داس و ماخراجی (۲۰۰۶) بکارگیری 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. هدایت و تاچیبان (۲۰۱۲) طی یک پژوهش از قارچ *Fusarium* جهت تخریب زیستی ترکیبات آلیفاتیک نفتی استفاده نمودند و نتایج آن-ها کاهش میزان ۴۸/۸ درصد در طی ۲۰ روز را نشان داد.

صدروی و همکاران (۱۳۹۲) در طی پژوهشی نقش قارچ‌های همزیست ریشه در احیای زمین‌های آلوده به مواد سمی را بررسی کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که همزیستی قارچ‌ها با ریشه گیاهان کارایی گیاهان همزیست را در پالایش خاک های آلوده از مواد سمی افزایش می‌دهد. قارچ *Hebeloma mesophaeum* که همزیست سطح ریشه گیاهان نوئل نروژی، راش، توسکا، بید مجنون و بید مشک است، با جذب و غیرفعال کردن فلزات سنگین آلاینده موجود در خاک در شبکه ریسه‌ای هارتیگ خود در پوست ریشه، به استقرار و رشد بهینه این گیاهان در خاک های آلوده کمک

می‌کند. قارچ‌های همزیست ریشه آربوسکولار *Claroideoglomus* ، *mosseaeFunneliformis*، *deserticola Septoglomus*، *Glomus versiforme* و *G. intraradices* به ذرت، سویا، شبدر، شبدر زیرزمینی، گوجه فرنگی و اکالیپتوس در استقرار و رشد بهینه و جذب بیشتر عناصر غذایی در خاک های آلوده به کادمیوم، سرب، روی، آرسنیک و مواد نفتی کمک کرده اند. این قارچ‌ها با تثبیت این عناصر و مواد آلاینده در شبکه ریسه‌ای خارج ریشه‌ای خود باعث غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند. بنابراین قارچ‌های همزیست ریشه می‌توانند کمک زیادی در احیای زیستی زمین‌های آلوده بنمایند.

فرادجی و همکاران (۲۰۱۴) در یک پژوهش برای تجزیه نفتالن و نفت خام را به وسیله سویه-های استرپتومایسس مطالعه نمودند و بازده حذف نفتالن به وسیله سویه‌های مولد بیوسورفکتانت را ۸۱ الی ۸۳ گزارش کردند. قویدل و همکاران (۱۳۹۵) در طی پژوهشی جداسازی و مقایسه کارایی باکتری‌های برتر تجزیه کننده نفت از خاک‌های آلوده جنوب پالایشگاه تهران را بررسی کردند. بدین منظور، شش نمونه خاک آلوده نمونه‌برداری و طی سه مرحله آزمایشگاهی، سویه های برتر باکتری-های تجزیه کننده نفت جداسازی گردیدند. در مرحله اول جداسازی و خالص سازی باکتری‌های بومی نفت‌خوار در محیط کشت اختصاصی عصاره خاک - آگار، در مرحله دوم مطالعه کارایی جدایه‌ها در محیط کشت پایه معدنی مایع همراه با ۷٪ حجمی نفت گاز به عنوان منبع هیدروکربنی و در مرحله سوم مقایسه میزان تنفس سویه‌های باکتریایی در محیط حاوی ۳٪ وزنی نفت گاز انجام شد. در پایان این سه مرحله آزمایشگاهی، از بین تمام جدایه‌های تجزیه کننده مواد نفتی، دو جدایه باکتری *BJ.1* و *BM.1* با میزان تنفس به ترتیب، ۲/۱ و ۱/۸ میلی گرم *CO2* در هر گرم شن – پرلیت در ماه، به عنوان برترین و توانمندترین باکتری‌های تجزیه کننده نفت گاز انتخاب شدند.

ینگ تنگ و همکاران (۲۰۱۰) مطالعه‌ی کوچکی برای آزمون توان پاک‌سازی زیستی گونه-های *Paracoccus sp. Strain HPD – 2* بر روی خاک‌های آلوده به *PAH* انجام دادند و کاهش ۲۳/۲ درصد در غلظت کل PAH خاک در طول ۲۸ روز را مشاهده کردند. وولیکا و همکاران (۲۰۰۹) در یک مطالعه آزمایشگاهی میکروارگانیسم های هوازی قادر به تخریب بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن

(BTEX) را از یک ناحیه آلوده شده توسط تولیدات نفت خام جداسازی کردند و تحت دو شرایط آزمایشگاهی و مزرعه آزمایش کردند. آن‌ها مشاهده کردند که بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن اضافه شده به محیط کشت در آزمایشگاه به عنوان منبع کربن تنها در غلظت *mg/l* ۵۰۰ در محیط کشت تحت شرایط آزمایشگاهی، باعث کاهش ۸۴ درصد بنزن، ۸۶ درصد تولوئن، ۸۲درصد زایلن شد است. در محیط کشت با اتیل بنزن به عنوان منبع کربن تنها، این کاهش حدود ۸۰ درصد بود. در شرایط مزرعه مقادیر اندکی کمتر مشاهده شد. یوسفی‌کبریا و همکاران (۲۰۰۹) با جداسازی و بررسی ویژگی های باکتری‌های تجزیه کننده روغن دیزل از خاک‌های آلوده به این مواد گزارش کردند که باکتری بومی *Bacillus* نسبت به دیگر میکروارگانیسم‌های خاک نقش مهمی در زیست به‌سازی روغن دیزل به میزان ۸۵/۲۰ درصد دارا می‌باشد.

۲-۳-۱-۲ گیاهان

مللی و همکاران (۱۳۹۰) در پژوهشی با استفاده از گیاهان، پالایش ترکیبات آلی لجن در خاک جهت کاهش یا حذف هیدروکربن‌های نفتی را مورد آزمون قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش درصد لجن تا سطح ۴۰ درصد میزان هیدروکربن های نفتی در ریزوسفر گیاه تال فسکیو ۶۵ درصد کاهش یافت. در حالی که در ریزوسفر گیاه اگروپایرون با افزایش درصد لجن و در سطح ۳۰ درصد میزان ترکیبات نفتی ۵۵ درصد کاهش یافت. در مجموع سطح ۴۰ درصد لجن، عملکرد ریشه و اندام هوایی کمتری نسبت به سایر سطوح لجن در اگروپایرون و تال فسکیو داشت. تجزیه هیدروکربن-های نفتی در ریزوسفر تال فسکیو و در سطح ۴۰ درصد لجن مخلوط با خاک باغ پرندگان بیشتر از سایر سطوح بود، اما عملکرد به دست آمده در این سطح بسیار پایین بوده و به دست آوردن سطح پوششی مناسبی از گیاه مشکل است. اما در کل عملکرد این گیاه در سطح ۲۰ درصد لجن مخلوط با خاک محمود آباد کاهش بسیار زیادی نسبت به شاهد نداشت و تجزیه هیدروکربن‌های نفتی نیز در این سطح نسبتاً قابل قبول بود. بنابراین گیاه‌پالایی به وسیله این گیاه و در خاک محمود آباد در سطح ۲۰ درصد لجن و در خاک باغ پرندگان در سطح ۳۰ درصد لجن توصیه می‌شود. بیشترین میزان

تجزیه هیدروکربن های نفتی در ریزوسفر اگروپایرون، در سطح ۳۰ درصد لجن مخلوط با خاک باغ-پرندگان مشاهده شد. اما بیشترین عملکرد گیاه در سطح ۲۰ درصد لجن دیده شد. بنابراین گیاه‌پالایی به وسیله این گیاه در سطح ۲۰ و ۳۰ درصد لجن و ترجیحاً مخلوط با خاک با بافت سبک‌تر توصیه می‌شود. این مطالعه نشان داد که ریزوسفر گیاه تال فسکیو در کاهش ترکیبات نفتی بیشترین اثر را داشته است و به نظر می‌رسد که گیاه‌پالایی در خاک‌های با بافت ریزتر می‌تواند با جذب و تثبیت ترکیبات سمی در سطوح بالاتری از ترکیبات آلاینده گیاه را در خود رشد و توسعه دهد.

نتایج مطالعه خان و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که بعد از ۱۸هفته کشت چاودار در خاک آلوده راندمان حذف پیرن در ریزوسفر این گیاه بیش از ۶۰ درصد بود وگیاهان از طریق افزایش جمعیت و فعالیت های میکروبی و همچنین تغییر ترکیب جوامع، تجزیه پیرن را در خاک تحریک نمودند. این پژوهشگران اظهار نمودند روابط متقابل بین گیاه و جامعه باکتریایی ریشه روی تجزیه *PAH* تأثیر خواهد گذاشت. لو و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثر کشت نوعی گراس را در زیست‌پالایی خاک آلوده به نفت (۸۲۴۷ میلی گرم *TPH* بر کیلوگرم خاک) بررسی و گزارش دادند بعد از ۵ ماه غلظت آلاینده تا ۴۷ درصد در خاک حاوی گیاه و تا ۱۱ درصد در خاک فاقد گیاه کاهش نشان داد و جمعیت باکتری‌ها در ریزوسفر ۷۲ برابر بیشتر از خاک فاقد گیاه بود. در این بررسی ۳۲ درصد *PAH* از خاک حذف گردید در حالی که در خاک فاقد گیاه این میزان فقط ۵ درصد بود. در بررسی دیگر گاسکین و بتنهام نیز افزایش *TPH* و افزایش فعالیت بیولوژیکی خاک را در محیط ریزوسفر گراس‌های بومی استرالیا در یک سایت آلوده گزارش دادند. به طور کلی این مطالعات نشان می‌دهد تخریب هیدروکربن‌های نفتی در ناحیه ریزوسفر نسبت به سایر قسمت‌های خاک بیشتر بوده و گیاهان با سیستم ریشه‌ای گسترده برای تجزیه بیولوژیک این ترکیبات مفید می‌باشند. وجود پوشش گیاهی به علت ارتقاء و بهبود خصوصیات خاک بوسیله ریشه گیاه و افزایش فعالیت میکروبی خاک، ممکن است باعث افزایش فرایند پالایش گردد.

مباشری و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادن که گیاه باساياسکوپاریا *Bassia scoparia (L.) A. J*؛) که به راحتی در انواع خاک‌ها رشد می‌کند. 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. مرکل و همکاران (۲۰۰۵) نیز گیاه علفی *Brachiaria brizantha* را به عنوان پاسخ بهینه برای کاهش غلظت ترکیبات نفتی از خاک نسبت به دیگر گیاهان مورد مطالعه خود معرفی کردند.

لرستانی و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی به مطالعه و بررسی توانایی استقرار و رشد گونه‌های 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 غلظت‌های مختلف (۴، ۳، ۲، ۱٪) در مدت ۴۰ روز پرداختند. همچنین به منظور بررسی پتانسیل حذف ترکیبات نفتی از خاک با استفاده از روش گیاه‌پالایی، میزان کاهش ترکیبات نفتی از خاک آلوده توسط این گونه‌ها اندازه‌گیری شد. بیش‌ترین کاهش ترکیبات نفتی از خاک به میزان ۷۳/۳ درصد در تیمار ۱ درصد در گونه خلر *(Lathyrus sativus)* و همچنین کمترین کاهش ترکیبات نفتی به میزان ۳۸/۶ درصد در تیمار ۴ درصد در گونه شنبلیله *(Trigonella foen)* مشاهده شد.

هاتچینسون و همکاران (۲۰۰۱) تجزیه *TPHs* در خاک در حضور مرغ پنجه‌ای و فسکیو را در یک مطالعه گلخانه‌ای مورد بررسی قرار دادند و کاهش حدود ۶۸ و ۶۲ درصدی غلظت این آلاینده‌ها در خاک را به ترتیب در حضور مرغ پنجه‌ای و فسکیو گزارش نمودند. بسالت پور (۱۳۸۶) کاهش حدود ۷۱ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در حضور آگروپایرون در انتهای یک دوره ۴ ماهه گیاه-پالایی را گزارش نمودند. المنصوری و همکاران (۲۰۱۷) در یک آزمایش گلخانه‌ای به بررسی قدرت پالایش گیاه پریموز *Ludwigia octovalvis* در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی پرداختند. گیاه پریموز در غلظت‌های مختلف *TPH* در خاک‌های آلوده (۱، ۲، ۳ گرم بر کیلوگرم) تست شد و

نتایج این پژوهش نشان داد که حداکثر حذف *TPH* در طی دوره ۷۲ روزه ۷۹/۸ درصد برای غلظت ۲ گرم در کیلوگرم می‌باشد. در حالی که حداکثر حذف در نمونه شاهد ۴۸/۶ درصد بوده است.

وایتس و همکاران (۱۹۹۸) نیز دریافتند که گونه‌های مختلف یونجه اثری مثبت بر کاهش غلظت آلاینده‌های ناشی از نفت خام در خاک دارند. به شکلی که در حضور این گیاهان، کاهش حدود ۳۳ تا ۵۶ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در مقایسه با تیمار شاهد بدون گیاه مشاهده شد. گادوین و همکاران (۲۰۱۴) قدرت گیاه کدو تنبل را به مدت ۱۸ هفته و در ۴ غلظت آلودگی مطالعه نمودند و نتایج نشان داد بیش ترین درصد کاهش *TPH* در غلظت ۱/۵۹ درصد و به میزان ۹۴/۳۸ درصد بوده است. چینیو و همکاران (۱۹۹۷) نیز در مطالعات خود به کاهش جوانه‌زنی بذر در ۷ گیاه مورد مطالعه خود شامل گندم، جو، آفتابگردان، ذرت، لوبیا، شبدر و کاهو با وجود آلاینده‌های نفتی در خاک اشاره و گزارش کردند که بذرهای آفتابگردان > لوبیا > گندم > شبدر > ذرت > جو > کاهو در برابر این آلاینده‌های موجود در خاک، مقاومت کردند. همچنین ایشان بیان داشتند که ترکیب های سبک‌تر نفتی به سبب آنکه قادر به عبور از دیواره و غشای سلولی بذر و اثر بر جنین بذر و واکنش‌های متابولیسمی درون بذر هستند، اثر بیشتری نسبت به ترکیبات سنگین‌تر نفتی در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی دارند.

کردانی و تکدستان (۱۳۹۴) در طی پژوهشی اثر گیاه وتیور بر حذف *TPH* از خاک آلوده به نفت در غلظت‌های مختلف آلودگی نفتی در ناحیه صنعتی خوزستان را بررسی کردند. نتایج حاصله نشان داد که بهترین راندمان حذف *TPH* در تیمار ۵ درصد آلودگی نفتی به میزان ۹۱ درصد توسط گیاه وتیور و در زمان ۱۲۰ روز بوده است. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که گیاه وتیور توانایی بالایی در حذف آلودگی‌های نفتی از خاک آلوده را داراست. شهریاری و همکاران (۱۳۸۵) در پژوهش‌های خود مطالعه‌ای روی مخلوط گیاه یونجه و فسکیو بر خاک آلوده در غلظت-های مختلف نفت خام (۱۰-۷-۵-۳-۱ درصد) به مدت ۱۲۰ روز داشتند که بشترین درصد کاهش در نمونه ۱ درصد آلودگی نفتی و به میزان ۳۶/۷ درصد گزارش شد.

اسکالانت‌اسپینوسا و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه ای روی گیاه *Cyperus -laxus* در حذف *TPH* داشتند که نتایج آن نشان داد که این گونه گیاهی قادر است در خاک‌هایی که غلظت *TPH* حتی ۲۰۰ گرم در کیلوگرم خاک است، رشد کند. در مطالعات فوق غلظت *TPH* تا ۹۰ درصد در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافت. هانگ و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه‌ای روی بازده حذف *TPHs* از خاک توسط ترکیب روش زیست‌پالایی گیاهی با برخی اقدامات مکانیکی کشاورزی داشتند. همچنین در آزمایشی دیگر که بر روی ذرت و *Elephant grasss* در مدت دو هفته داشتند، آن‌ها توانستند غلظت کل هیدروکربن‌ها را به ترتیب ۷۷/۵ درصد و ۸۳ درصد کاهش دهند.

دریابیگی زند و همکاران (۱۳۹۰) به بررسی توان پنج گونه گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک های بسیار آلوده با غلظت *TPH* بیش از ۵۰۰۰۰*mg/kg* پرداخته و دریافتند که گیاه کتان بیش‌ترین درصد حذف *TPH* را با ۸۷/۶۳ درصد داشته است. باسوماتری و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه‌ای با دو نوع گیاه جگن را به مدت ۳۶۰ روز انجام دادند و درصد کاهش *TPH* در نمونه با کود *C.Odoratus* را ۷۸ درصد گزارش نمودند.

سروی مغانلو و همکاران (۱۳۹۱) در طی پژوهشی تأثیر قارچ مایکوریزا و باکتری‌های تجزیه-گر در افزایش گیاه‌پالایی ترکیبات نفتی را بررسی کردند، برای این منظور دو خاک آلوده با سطح آلودگی ۱ و ۲ درصد آلوده به نفت خام آماده گردید و چهار تیمار گیاه شبدر، گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز، گیاه شبدر همراه با مایه‌زنی باکتری‌های تجزیه‌گر و گیاه همراه با مایه‌زنی قارچ میکوریز و باکتری‌های تجزیه‌گر نفت برای فرایند زیست‌پالایی خاک آلوده به کار گرفته شد. نتایج مطالعات نشان داد که با افزایش سطح آلودگی میزان ریشه و اندام‌های هوایی کاهش می یابد و درصد کلونیزاسیون در تیمارهای دریافت کننده قارچ میکوریزا کاهش معنی‌داری نداشت. با افزایش میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده ترکیبات نفتی میزان تجزیه ترکیبات نفتی در مقایسه با تیمار کشت گیاه به تنهایی در هر دو سطح آلودگی افزایش می یابد. بیشترین میزان تجزیه با مقدار ۸۵ درصد در تیمار دریافت کننده قارچ میکوریزا و باکتری‌های تجزیه‌گر در سطح آلودگی ۲ درصد مشاهده شد.

نتایج کروماتوگرافی گازی نشان دهنده کاهش ۸۰-۴۰ درصدی نرمال آلکان‌ها و ایزوپروپانوئیدها همچون پریستان و فیتان در تمامی تیمارهای دریافت کننده میکروارگانیسم های تجزیه کننده ترکیبات نفتی بود.

لی و همکاران (۲۰۰۲) در پژوهش‌های خود بیان نمودند که محدوده توسعه ریشه یعنی ریزوسفر دارای جمعیت میکروبی بیشتر و فعال‌تری نسبت به خاک بدون ریشه است. گیاهان قادرند از طریق رهاسازی عناصر غذایی و ترشحات خود در خاک و انتقال اکسیژن به ناحیه ریشه خود موجب تحریک و افزایش فعالیت جمعیت میکروبی تخریب کننده آلاینده‌های نفتی شوند. فرو و همکاران (۱۹۹۹) نیز در مطالعات گلخانه‌ای خود کاهش معنی‌دار غلظت پایرن، کریزن و فلورانتن در حضور گیاه رای‌گراس دائمی را گزارش کردند. دریابیگی زند و همکاران (۱۳۹۰) در تحقیقی به بررسی پارامترهای رفتاری ۵ گونه گیاهی یونجه، کرچک، آفتابگردان، کتان و ذرت بلالی در خاک بسیار آلوده (بدون کود و کوددار) و توانایی آنها در حذف ترکیبات نفتی از خاک پرداخته است. پایش رشد گیاه در روزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ انجام گرفت. آنالیز غلظت آلودگی در خاک به روش گاز کروماتوگرافی (*GC*) با دتکتور*FID* انجام گرفت. آلودگی نفتی دارای تأثیر قابل ملاحظه بر رشد گیاهان بود. گونه-های آفتابگرادان و ذرت بلالی نسبت به سایر گونه‌ها از رشد بهتری در خاک آلوده برخوردار بودند. در میان گیاهان رشد کرده در خاک آلوده، بیشترین ارتفاع اندام هوایی در گونه گیاهی آفتابگردان (۲۵/۵ سانتی متر)، حداکثر طول ریشه در کرچک (۲۶ سانتی متر)، حداکثر بیومس خشک ریشه در آفتابگردان (۴/۲ گرم) و بیشترین بیومس خشک اندام هوایی برای ذرت بلالی (۲/۶گرم) به دست آمد. همچنین در میان کودهای استفاده شده، کود پیت بهترین کارایی را برای رشد گیاهان در خاک آلوده به ترکیبات نفتی نشان داد. حداکثر میزان حذف *TPHs* درکتان (۸۷/۶۳درصد) مشاهده شد به طوری که این گونه گیاهی توانست در مدت سه ماه بیش از ۳۵۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از ترکیبات نفتی خاک را حذف کند. نتایج این تحقیق نشان داد تکنولوژی زیست‌پالایی گیاهی روشی مؤثر و نوید بخش در حذف آلودگی نفتی از خاک‌های بسیار آلوده می‌باشد

۲-۳-۲ روش‌های دیگر پاک‌سازی آلودگی نفتی

علاوه بر روش‌های زیستی ذکر شده، روش‌های دیگری برای پاکسازی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی وجود دارند که در ادامه بررسی می‌شوند.

۲-۳-۲-۱ جانوران خاکزی

کرم‌های خاکی که توانایی بقا در خاک‌های آلوده را دارند با حفاری‌های پیوسته در خاک آلوده سبب افزایش هوادهی و دسترسی میکروب‌های خاک به آلاینده‌ها و سرعت بخشیدن به فرایند حذف آلاینده‌های نفتی از خاک می‌شوند (جعفری فرجام و همکاران ۱۳۹۴).

شفر و همکاران (۲۰۰۵) پویایی جمعیت و فعالیت میکروبی را در خاک‌های آلوده به نفت با حضور یا بدون حضور کرم‌های خاکی مطالعه کردند. ۳ گونه‌ی کرم‌خاکی (*Eiesenia fetida (Allolobophora chlorotica, Lumbricus terrestris* در خاک آلوده به نفت خام خوابانیده شده بودند و یک خاک مرجع به مدت ۲۸ روز به عنوان شاهد با مخلوط کود دامی و یا مکمل کود گاوی نیز خوابانیده شده بود. نتایج نشان داد، در خاک‌های آلوده به نفت خام، تنفس و غلظت بیوماس میکروبی در تیمار دارای کرم‌خاکی بطور معنی‌داری افزایش یافت و غلظت‌های *TPH* بطور معنی‌داری کاهش یافت.

۲-۳-۲-۲ افزایش کود و مواد اصلاح کننده

پالرموس وهمکاران (۲۰۰۲) کاهش ۷۴ و ۶۷ درصدی غلظت این آلاینده‌ها در تیمار بقولات با کوددهی حاوی عناصر فسفر، نیتروژن و پتاسیم و کاهش ۶۱ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در تیمار بقولات بدون کوددهی را گزارش کردند. هم چنین ایشان پس از یک دوره آزمایش ۶۰ روزه به کاهش ۴۰ و ۹۸ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در حضور گیاهان علفی به ترتیب در تیمار بدون تلقیح میکروبی و تیمار تلقیح میکروبی اشاره نمودند.

جعفری و همکاران (۱۳۹۲) بهینه سازی شرایط میکروارگانیسم های بومی خاک‌های آلوده را با استفاده از کودهای شیمیایی ازت، فسفر و پتاسیم با دو نسبت ۱۰:۱:۱ و ۱۰:۲:۱ پس از طی زمان تعادلی اولیه (۱۰ روز) بررسی نمودند. در این پژوهش بین میزان تجزیه TPH و CO_2 حاصل از فعالیت میکروبی، همبستگی مؤثری مشاهده شد که نشان دهنده‌ی ارتباط تجزیه نفت کوره به وسیله میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده نفت است. نتایج استفاده از دو نسبت کودی مورد استفاده، مؤید سودمندی بهتر کود NPK با نسبت ۱۰:۲:۱ بود. کاربرد مواد اصلاحی سبب تأثیر مناسب باکتری‌های تجزیه کننده آلاینده‌های هیدروکربنی، به ویژه در نخستین هفته پس از تعادل تیمارها به دلیل تجزیه سریع‌تر ترکیبات زنجیر کوتاه و ساده مانند آلکان‌ها بوده است.

شریفی حسینی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی نفت خام چاه شماره ۶۹ میدان نفتی مارون را با غلظت ۱ درصد وزنی 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. نتایج نشان داد که تیمارهای اعمال شده باعث تجزیه‌ی ۶۰-۴۵ درصد آلودگی نفتی در خاک شدند و نتایج کروماتوگرافی گازی نیز کاهش در کلیه‌ی مقادیر نرمال آلکان‌ها و ایزوپرونوئیدها مانند فیتان و پریستان را نشان داد.

۲-۳-۲-۳ سیستم فاز دوغابی

این فرایند به منظور دسترس پذیری بیشتر، برای میکروارگانیزم ها در برابر ترکیبات مورد نظر هیدروکربنی علی‌الخصوص ترکیبات حلقوی و پلی‌سیکلیک آروماتیک مورد استفاده قرار می گیرد. در-واقع به علت کند آزاده شدن ترکیبات مزبور از فاز خاک و عدم دسترس پذیری آنها در برابر میکرو-ارگانیرم ها از فرایند دوغابی استفاده می کنند. در شرایط دوغابی تماس بیشتری بین میکروارگانیزم ها و ترکیبات هیدروکربنی انجام می شود، چرا که میکروارگانیزم ها، تمایل بیشتری به فاز آبی دارند (گنارو و همکاران، ۲۰۰۷). در فاز دوغابی سایر پارامترهای آزمایشگاهی موجود، از قبیل محیط کشت معدنی-نمکی، شرایط هوادهی، تنظیم دمای عملیاتی و غیره با فاز جامد تفاوتی ندارد. نقطه تفاوت در فاز دوغابی، استفاده از درصد آب از نظر حجمی به وزن خاک می‌باشد که معمولاً آب باید در حدی

باشد که دوغاب تشکیل شود. به طور معمول این میزان بین ۵ تا ۴۰ درصد حجمی به وزن خاک گزارش شده است. از نکات قابل توجه در فرایندهای دوغابی، بکارگیری بیوراکترهای دوغابی می باشد، استفاده از این بیوراکتورها با توجه به این که، می‌توان شرایط عملیاتی از قبیل شدت هوادهی، pH، دورهمزن، دما و سایر پارامترهای دیگر را کنترل کرد، قابل توجه می‌باشد (والنتین و همکاران، ۲۰۰۷).

بوپاتی (۲۰۰۴) محیط‌های بی‌هوازی را در سیستم‌های فاز دوغابی خاک تحت شرایط پذیرنده‌ی الکترون مخلوط با موفقیت برای زیست‌پالایی رسوبات سوخت دیزل استفاده کرد. بیسوایس و همکاران (۲۰۰۵) نیز نقش جاذب‌هایی همچون پیت_جذب و کاغذ_جذب در جذب دیزل خاک آلوده به نفت به وسیله‌ی یکی شدن با زیست‌پالایی فاز دوغاب خاک را نشان دادند.

پرتوی نیا و نعیم پور (۱۳۸۷) در طی پژوهشی زیست تخریب پذیری هگزادکان با یک باکتری جداسازی شده، برای کاهش مقدار کربن خاک رسی آلوده، را بررسی کردند. برای این کار از یک سیستم مدل، شامل خاک رسی کائولن با اندازه مش ۱۰۰ و نرمال-هگزادکان، به عنوان تنها منبع کربنی باکتری به مدت ۲۰ روز در فاز دوغابی در کشت های لرزان (دورrpm۲۰۰ و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد) طراحی گردید. تجزیه هگزادکان در شرایط مختلف غلظت هگزادکان (۱۰۰۰۰ و rpm۳۰۰۰۰)، نسبت خاک به آب (۰/۲ و ۰/۳۳)، مقدار مایه تلقیح (۵ و ۱۰ درصد) و pH اولیه محیط (۵/۵ و۷) بررسی شد. در شرایط مختلف، ۱۰ تا ۷۰ درصد کاهش در TOC مشاهده شد که نتایج توانایی بالای این باکتری را در تجزیه زیستی هگزادکان جذب شده در خاک نشان می‌دهند. حضور بیوسورفکتانت‌ها در محیط‌های حاوی مواد آلی می‌تواند موجب افزایش حلالیت این مواد شود، کشش سطحی به عنوان معیاری از وجود بیوسورفکتانت نیز در این تحقیق اندازه‌گیری شد و مقادیر ۲۹ تا m^{-} $mN.^{1}$۶۰ در شرایط مختلف به دست آمدند.

۲-۳-۲-۴ مواد شوینده

سیدرضوی و همکاران (۱۳۹۰) تاثیر شوینده‌ی زیستی ساپنین بر حذف نفت خام از خاک با غلظت‌های آلودگی ppm ۳۰۰۰۰ و ppm ۱۰۰۰۰ 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 *NaOH* و پلیمر *XanthanGum* نیز در مقادیر به ترتیب (۰/۶ و ۰/۱ درصد وزنی) و (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 ۱۱روی داده و غلظت محلول شوینده‌ی بهینه برای غلظت آلودگی ۱۰۰۰۰*ppm*، ۰/۱ درصد وزنی و برای *ppm* ۳۰۰۰۰، 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.

۲-۳-۲-۵ زمین‌پالایی

هارمسن (۱۹۹۱) فرایند زمین‌پالایی را روشی مؤثر و در عین حال ساده، کم‌هزینه و اقتصادی جهت پالایش آلاینده‌های آلی به ویژه آلاینده‌های نفتی معرفی کرد. مارین و همکاران (۲۰۰۵) ضمن اشاره به کاهش حدود ۸۰ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک طی یک دوره ۱۱ ماهه عملیات زمین‌پالایی از این فرایند به عنوان روشی مؤثر و کم‌هزینه برای پالایش آلاینده‌های نفتی از خاک نام بردند. لانگین و استین‌هارت (۱۹۹۵) کاهش بیشتر غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی *(Total petroleum Hydrocarbons, TPHs)* در خاک طی فرایند زمین‌پالایی نسبت به نمونه شاهد را گزارش نمودند.

سیمز و سیمز (۱۹۹۹) میزان و سرعت سمیت‌زدایی و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک آلوده طی فرایند زمین‌پالایی را مستقیماً به شدت به هم‌زدن و زیر و رو کردن خاک آلوده مربوط دانستند. هونگ و همکاران (۲۰۰۴) نیز با بررسی اثر سیستم‌های چند گانه زمین‌پالایی – گیاه‌پالایی –زیست‌پالایی بر خاک‌های آلوده به ترکیبات هیدروکربنه چند حلقه‌ای آروماتیک (*Poly Aromatic*

Hydrocarbons, PAHs)، به مؤثر بودن فرایندهای زمین‌پالایی و گیاه‌پالایی در حذف و پالایش این ترکیبات اشاره کردند.

۲-۳-۲-۶ روش‌های تلفیقی

زو و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعات خود به نقش مؤثر کشت همزمان ذرت- رای‌گراس بر کاهش غلظت ترکیبات نفتی در خاک اشاره نمودند. شواب و بنکس (۱۹۹۴) نیز با بررسی تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک در حضور گیاهان مختلف گزارش کردند که تجزیه این ترکیبات در خاک به نوع ترکیب و غلظت آن و نیز نوع گونه گیاهی وابسته است، بنابراین انجام یک انتخاب بهینه نقش بسیار مهمی در کسب موفقیت در فرایند گیاه پالایی دارد.

دنگ‌وزنگ (۲۰۱۷) طی یک پژوهش با هدف حذف فنانترن از خاک با ترکیبی از گیاه یونجه، کرم‌خاکی و قارچ *(white-rot fungus)* پرداختند. به این منظور این آزمایش به مدت ۶۰ روز به طول انجامید. تلقیح کرم‌خاکی، قارچ *(white-rot fungus)* و گیاه یونجه می‌تواند سبب انباشته شدن فنانترن در گیاه یونجه شود. میزان حذف فنانترن در خاک تحت تیمارهای مختلف از جمله قارچ *(white-rot fungus)*، کرم‌خاکی، گیاه یونجه، کرم‌خاکی + گیاه یونجه، قارچ *(white-rot fungus)* + گیاه یونجه، کرم‌خاکی + گیاه یونجه + قارچ *(white-rot fungus)* به ترتیب برابر است با ۳۳٪، ۴۸٪، ۶۶٪، ۷۴٪، ۸۵٪ و ۹۳٪ می‌باشد. مطالعات حاضر نشان داد که ترکیب از گیاه یونجه کرم‌خاکی و قارچ *(white-rot fungus)* یک راه مؤثر برای حذف فنانترن در خاک است.

دریابیگی‌زند و همکاران (۲۰۱۰) گیاه‌پالایی هیدروکربن‌های نفت‌خام کل (*PAHs*) را با استفاده از گونه‌های گیاهی در ایران را مطالعه کردند. هدف اصلی مطالعه‌ی آن‌ها بررسی اثر هیدروکربن‌های نفت خام با غلظت اولیه‌ی بالا (حدود ۳/۵ درصد) بر روی خصوصیات رشدی ذرت *(Zea mays L.)* و تال‌فسکیو *(Festuca arundinacea)* و همچنین ارزیابی پتانسیل گیاه‌پالایی ۲ گونه‌ی گیاهی مذکور در خاک با آلودگی بالا بود. برای بهبود شرایط تغذیه‌ای خاک و همچنین مطالعه‌ی اثر اصلاح کننده‌های خاک بر روی رشد گیاه، اصلاح کننده‌ی پیت نیز مطرح شد. نمونه‌های

خاک برای تفکیک *TPH* توسط *GC-FID* آنالیز شدند. گونه‌های گیاهی بکار رفته رفتار رشدی امید بخشی را در غلظت بالای آلاینده‌ی خاک نشان دادند. کاهش *TPHs* در انتهای مسیر آزمایش در همه‌ی تیمارها یافت شد. حداکثر حذف در تال‌فسکیو بدست آمد. اصلاح کننده‌ی پیت اثر مثبتی را بر روی رشد گیاه در خاک آلوده نشان داد.

۲-۳-۲-۷ استخراج بخارات آلاینده

متد پاک‌سازی استخراج بخارات آلاینده‌ها *(Soil Vapor Extraction)* یک روش در محل برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده است. 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).

گیتی‌پور و همکاران (۱۳۹۵) حذف آلاینده‌ها از خاک‌های آلوده به بنزین را با استفاده از روش استخراج بخارات آلاینده‌ها (*SVE*) مورد بررسی قرار دادند. بدین منظور نمونه خاک طبیعی غیرآلوده 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 کارای 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 سانتی‌گراد به ۴۰ درجه سانتی‌گراد و نیز از ۴۰ درجه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد میان بازدهی حذف بنزین را در مدت ۱۲ ساعت به ترتیب ۱۰٪ و ۲۶٪ بیش‌تر نمود.

۲-۴ پنیرک

نام علمی : *Malva sylvestris*، نام عمومی : *High mallow* ، *Common mallow*، نام خانواده : *Malvaceae* (خانواده پنیرک).

۲-۵ شبدر

شبدر با نام علمی *(Trifolium)* به معنی سه برگچه‌ای است. جزء مهمترین گیاهان علوفه‌ای خانواده لگومینوز (*Leguminous*) و در مناطق معتدل و مرطوب که از نظر علوفه‌ای و مرتعی دارای ارزش بسیار زیادی است. تعداد گونه های شبدر در دنیا حدود ۳۰۰ گونه ذکر شده است (ملازاده، ۱۳۸۹).

فصل سوم

مواد و روش‌ها

۳-۱ تهیه‌ی خاک برای انجام پژوهش

در این مطالعه، خاک مورد نیاز از شرکت نفت شهرستان گچساران واقع در جنوب غربی ایران در استان کهگیلویه و بویر احمد تهیه شد. آلودگی هیدروکربنی خاک از محل چاه‌های نفتی که به طور طبیعی به ترکیبات نفتی آلوده شده بود، انتخاب شد.

۳-۱-۱ خصوصیات خاک

در ابتدا خاک توسط غربال درشت الک شد تا ذرات درشت خاک و قلوه‌سنگهای آن که قابل خرد شدن نبودند از خاک جدا شود. خاک بصورت یکنواخت هوا خشک شد و پس از گذشت دو روز خاک از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد تا مخلوط یکنواختی حاصل گردد. مطالعات خاکشناسی نمونه‌های خاک حاوی هیدروکربن های نفتی (نفت‌کوره)، شامل pH در سوسپانسیون ۱:۱ آب-خاک توسط دستگاه pH متر (توماس۱۹۹۶). قابلیت هدایت الکتریکی خاک (EC) در عصاره ۲:۱ آب-خاک با کمک دستگاه هدایت‌سنج (رودس، ۱۹۹۶)، مواد آلی به روش تیتراسیون با فروسولفات آمونیوم (والکی و بلاک، ۱۹۳۴) و بافت خاک به روش هیدرومتری (بویوکاس،۱۹۶۲)، در آزمایشگاه انجام شد (جدول۳-۱). غلظت عناصر موجود در خاک مورد مطالعه نظیر عناصر آرسنیک، کادمیوم، کروم، سرب و نیز عناصر آهن، روی، مس به کمک دستگاه ICP- MS اندازه گیری شد (جدول۳-۱). 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 میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به داخل ستون‌های تفلون میکروویو ریخته شد و در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد عمل هضم صورت گرفت(کینگستون و همکاران، ۱۹۹۵). جهت تایید دقت و صحت اندازه‌گیری نمونه‌ها از نمونه مرجع نیز استفاده شد که این نمونه‌ها از کشور آلمان خریداری شد.

غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک در ابتدای آزمایش و بر اساس دستورالعمل EPA (آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا، ۲۰۰۱) به صورت انتقال آلودگی از ماتریکس خاک به سیال حلال به نام دی‌کلرومتان، تبخیر حلال و سنجش آلایندهای هیدروکربنی بود اندازه‌گیری شد. نتایج

نشان داد آلودگی اولیه خاک حدود ۶۸/۵ گرم در کیلوگرم بوده، که این مقدار آلودگی برای گیاه بسیار بالاتر از ماکزیمم بازدهی گیاه‌پالایی بود که حداکثر معادل ۱۰ درصد برآورد شده است (شهریاری و همکاران، ۱۳۸۵)، بنابراین میزان آلودگی خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (نفت کوره) باید کاهش می‌یافت تا برای کشت گیاهان آماده می‌شد. بدین منظور، بر اساس نسبت وزنی و باتوجه به وزن خاک موجود در هر گلدان (۳ کیلوگرم خاک در هر گلدان)، نسبت خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (نفت کوره) و خاک غیرآلوده تعیین شد. برای هر گلدان ۳ کیلوگرمی، ۲ کیلوگرم خاک آلوده به هیدرو-کربن‌های نفتی (نفت‌کوره) و ۱ کیلوگرم خاک رسی با هم مخلوط شد، که میزان آلودگی خاک آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (نفت کوره) به ۴۵/۶۶ درصد رسید. این کار برای کل خاک آلوده به هیدرو-کربن‌های نفتی و برای تمام گلدان‌ها انجام شد و بنابراین تعداد ۳۶ عدد گلدان حاوی خاک آلوده به هیدروکربن نفتی (نفت‌کوره) برای شروع کار آماده شد.

۳-۲- تهیه بیوچار برگ بلوط

ابتدا برگ‌های خشک درختان بلوط که از درخت افتاده بودند جمع‌آوری و درون ظرف فلزی درب‌دار ریخته شد. ظرف در دمای ۴۰۰ درجه به مدت ۶ ساعت در کوره مخصوص تهیه بیوچار حرارت داده شد. بعد از دو روز بیوچار از کوره خارج شد. سپس، ذرات بین ۰/۵ تا ۲ میلی‌متر توسط الک جدا شدند. خصوصیات بیوچارها توسط دستگاه pHمتر (3210 set 2)، ECمتر (Jenway4010) اندازه‌گیری و در در جدول (۳-۳) آورده شد.

جدول۳-۱ برخی از خصوصیات خاک ترکیب شده آلوده به همراه خاک غیر آلوده مورد استفاده در این پژوهش

پارامتر	مقدار
رس(٪)	۱/۲۸
شن(٪)	۶۸/۲۸
سیلت(٪)	۳۰/۳۴
بافت	شنی
اسیدیته	۷/۴
هدایت الکتریکی(ds/m)	۲/۳۰
مواد آلی	۲/۵۳
منیزیم(mg/kg)	۶۵۶۲/۸۵
بور(mg/kg)	۱۰/۷۳
پتاسیم(mg/kg)	۸۵۱/۵۴
کلسیم(mg/kg)	۲۰۱۸۹۵/۲۲
کروم(mg/kg)	۲۲/۷۲
منگنز(mg/kg)	۳۰۳/۲۳
آهن(mg/kg)	۶۵۰۷/۰۵
کبالت(mg/kg)	۵/۳۸
نیکل(mg/kg)	۵۰/۶۹
مس(mg/kg)	۱۲/۶۳
روی(mg/kg)	۱۱۳/۸۶
آرسنیک(mg/kg)	۲/۹۷
سیلینیم(mg/kg)	۱/۱۱
مولیبدن(mg/kg)	۰/۲۵
کادمیم(mg/kg)	۰/۱۰
نقره(mg/kg)	۰/۰۳
سرب(mg/kg)	۶/۹۴

جدول ۳-۲ خصوصیات خاک غیرآلوده مورد استفاده

پارامتر	مقدا
مواد آلی(درصد)	۰/۱۳
اسیدیته	۷
هدایت الکتریکی(دسی‌زیمنس بر متر)	۲/۲

جدول ۳-۳ خصوصیات بیوچار برگ بلوط مورد استفاده

پارامتر	مقدار
اسیدیته	۷/۸
هدایت الکتریکی(دسی‌زیمنس بر متر)	۲/۹

۳-۲ انتخاب گیاهان برای انجام زیست‌پالایی

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

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

ب) استفاده از راهنمایی مردم بومی شهرستان و نهادهای مختلف نظیر شرکت نفت، جهاد کشاورزی، منابع طبیعی، محیط زیست و مرکز تحقیقات کشاورزی برای شناسایی بهتر گیاهان مستعد بومی منطقه نظیر شبدر در پالایش آلودگی نفتی (نفت‌کوره).

بعد از مطالعات لازم، در نهایت ۲ گیاه شبدر *(Trifolium)* از خانواده (*Leguminous*) و پنیرک *(Malva sylvestris)* از خانواده(*Mallvacewas*) انتخاب شدند (ملازاده، ۱۳۸۹).

بذر ۲ گیاه بومی شبدر و پنیرک از مزارع شهرستان جمع‌آوری شد.

۳-۳ تهیه قارچ آربوسکولار مایکورایزا

بر اساس تحقیقات انجام گرفته بر روی گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا آرباسکولار یک اینوکلوم قارچی، شامل گونه‌های (*Glomus mossea*، *Glomus intraradices*، *Glomus etunicatum*) از شرکت زیست فناور پیشتاز واریان (دانش بنیان) برای انجام این پژوهش تهیه شد.

۳-۴ آزمایش گلدانی

در این پژوهش خاک آلوده به ترکیبات نفتی از شرکت بهره‌برداری نفت و گاز شهرستان گچساران واقع در استان کهگیلویه و بویر احمد تهیه شد. پس از ۲ روز هوادهی و خشک کردن آن‌ها، خاک‌ها کوبیده شده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و در هر گلدان ۳ کیلوگرم خاک (۲ کیلوگرم خاک آلوده و ۱ کیلوگرم خاک غیرآلوده) ریخته شد. تعداد بذر به کار برده شده در هر گلدان ۱۰ عدد و گیاهان مورد استفاده در این تحقیق ۲ گیاه بومی شامل شبدر و پنیرک بود. آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با دو فاکتور اصلاح کننده (شاهد، میکوریز و بیوچار) و گیاه (شبدر، پنیرک و بدون کشت گیاه) بود. ترکیب تیمارها به این صورت بود که از هرگیاه یک شاهد، یک بیوچار، یک میکوریز و یک بیوچار+میکوریز بود. آزمایشات به صورت گلدانی در ۳ تکرار انجام شد. پس از کشت گلدان‌ها درشرایط کاملا طبیعی گذاشته شدند و آبیاری به صورت هر ۲ روز یک مرتبه انجام شد. در تیمارهای دارای قارچ آربوسکولار میکوریزا مقدار ۱۵۰ گرم از اینوکلوم قارچی در ۳ سانتیمتری از لایه بالایی خاک قرار داده شد. در تیمار دارای بیوچار ۶ گرم در گلدان از بیوچار برگ بلوط کاملاً با خاک مخلوط شد. همچنین در همه تیمارها ۸۰ گرم در گلدان از کود نیترات آمونیوم به صورت محلول در ۴ مرحله به ترتیب درهفته ی ۴، ۵، ۶ و ۷ به هر گلدان داده شد.

پس از طی ۵۰ روز گیاهان برداشت شده و ریشه و اندام هوایی درهر گلدان جدا شدند و پس از شست‌وشو درآون دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال وزن شدند. وزن خشک ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد. درمرحله‌ی آخر از خاک برای آزمایشات مختلف نمونه‌برداری شد.

۳-۵ درصد تشکیل قارچ آربوسکولار مایکورایزا در ریشه

پس از جداسازی 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، اسید استیک و الکل ۵۰ درصد (نسبت حجمی۵:۵:۹۰) قرار داده شد. ریشه ها پس از رنگ زدایی در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد، اسیدی شده و به کمک محلول لاکتوگلیسرول دارای جوهر آبی رنگ-آمیزی، شدند (ویلیج و همکاران، ۱۹۹۸). پس از رنگ آمیزی، ریشه‌ها در محلول رنگ‌بر برای خروج رنگ اضافی قرار داده شدند و سپس نمونه ها به زیر میکروسکوپ نوری برده شد و در هر نمونه در ۱۰۰ نقطه میزان تشکیل هیف و آربوسکول قارچ های میکوریزا تعیین شد (مگونیگل و همکاران، ۱۹۹۰).

۳-۶ روش اندازه‌گیری مقدار ترکیبات نفتی

مقدار ۲ گرم خاک آلوده وزن و به آن ۱۰ میلی لیتر حلال دی‌کلرومتان اضافه شد. مخلوط به شدت و به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده، سپس مخلوط در دور۳۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا خاک آن رسوب نماید. محلول رویی از خاک جدا و در ظرف شیشه‌ای که از قبل وزن شده بود ریخته شد. مرحله فوق دوبار تکرار شد. سپس اجازه داده شد که حلال دی‌کلرومتان برای مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه تبخیر شده و باقی مانده دوباره وزن شد. این وزن مقدار نفت موجود در خاک را مشخص می کند (مینایی- تهرانی، ۲۰۰۶).

آزمایش استخراج نفت از خاک برای تمام نمونه‌های خاک گیاهان شبدر، پنیرک و شاهد، انجام شد و وزن هیدروکربن‌های نفتی (نفت‌کوره) موجود در خاک و درصد وزنی آلودگی هیدروکربنی (نفت‌کوره) خاک محاسبه شد و نقش گیاهان در میزان این کاهش بررسی شد.

۳-۷ روش آنالیز PAH[۱] (U.S. EPA 1984)

۱- PAHs (Poly Aromatic Hydrocarbons)

نمونه‌ها مطابق با روش استاندارد آژانس حفاظت محیطی آمریکا (EPA) به روش۳۵۵۰B (استخراج)، EPA۳۶۳۰C (تمیز کردن) و ۸۳۱۰ (تعیین) آنالیز شدند.

دستگاه HPLC[۱] L-۳۰۰۰ تجهیز شده با یک آشکار ساز فلورسانس ۴۶۱۰A برای آنالیز نمونه‌ها استفاده شد.یک ستون Lichrospher PAH (۲۵۰mm. ۴/۶ mm. ۵ um) برای جداسازی مواد مورد تجزیه استفاده شد. با استفاده از دستورالعمل تزریق کننده ۲۰ میکرولیتر تزریق شد. و آشکارسازی به صورت زیر اجرا شد.

فاز سیال: $۱.۰ Lnim.m^{-1}$,$۳۵ ^{o} C$

انتشار	استخراج	زمان	*H2O*	*CAN*	زمان
۳۳۰	۲۷۵	۰.۰	۴۵	۵۵	۰.۰
۳۸۰	۲۵۰	۱۱.۰	۲۰	۸۰	۱۵.۰
۴۵۰	۲۸۰	۱۳.۴	۰	۱۰۰	۱۵.۱
۳۸۵	۲۷۰	۱۴.۷	۰	۱۰۰	۲۵.۰
۴۲۰	۲۹۰	۱۹.۱			
۵۰۰	۳۰۰	۲۴.۰			

۳-۷-۱ اطلاعات دستگاه HPLC :

یک کروماتوگرافی مایع *Hewlett-Packard 1090-II* (در حال حاضر *Agilent*، *Palo Alto*، *CA*، *USA*) مجهز به یک شناساگر فلورسنت ۱۰۴۶ که برای تعیین آنالیت‌ها استفاده شده است. این سیستم با یک تزریق کننده *Rheodyne 7125i* که از حلقه ۲۰ میلی لیتر برخوردار است و یک سیستم تصفیه در خط (۰.۵ میکرومتر) مجهز می‌باشد.

ستون: *HECTOR-A C-18*؛ ۱۵ سانتی‌متر، ۳ میلی‌متر، *ID*، اندازه ذرات ۳ میلی‌متر

فاز متحرک: ۱۰۰٪ آب در *pH 2* (اسید سولفوریک)، سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه.

۱- Hewlett-Packard 1090-ll liquid Chromatograph

اطلاعات ستون و فاز متحرک به صورت زیر است:
ستون: ستون *Merck PAH*، *25* سانتی‌متر، ۴.۶ میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرون
فاز متحرک استونیتریل آب، سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیق

۳-۸ طرح مورد استفاده و تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی ومقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزار *statistix8* انجام گرفت. همچنین نرم افزار *Excel* نیز برای رسم نمودار مورد استفاده قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (*LSD*) و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

فصل چهارم

نتایج و بحث

در این پژوهش خاک آلوده به نفت (نفت‌کوره) تهیه شده از شرکت نفت گچساران مورد بررسی قرار گرفت. پس ازتعیین میزان آلودگی خاک و کشت گیاهان مطابق مطالب گفته شده در فصل مواد و روش‌ها، تغییرات آلودگی نفتی در خاک مورد بررسی قرار گرفت.

اثر ترکیبی گیاه به همراه اصلاح کننده بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی غیرمعنی‌دار و بر درصد تشکیل هیف در ریشه در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. با توجه به نتیجه بدست آمده و نتایج سایر محققین به نظر می‌رسد که هر دو گیاه انتخاب شده در جذب عناصر غذایی از خاک توانا بوده و باجذب آب و عناصر غذایی لازم توانستند عملکرد خوبی برای وزن خشک داشته باشند (جدول۴-۱).

جدول۴- ۱ تجزیه واریانس اثر تیمارها بر درصد تشکیل هیف، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی

متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات وزن خشک اندام هوایی	میانگین مربعات وزن خشک ریشه	میانگین مربعات درصد تشکیل هیف در ریشه
گیاه	۱	۳/۲۱۶**	۰/۰۶۶*	۴۳۳/۵۰**
اصلاح کننده	۳	۰/۵۳۳*	۰/۰۱۴^{ns}	۶۷۶۶/۷۹**
گیاه*اصلاح کننده	۳	۰/۰۵۶^{ns}	۰/۰۰۹^{ns}	۱۰۱/۴۷*
خطا	۱۶	۰/۱۶۵	۰/۰۱۴	۲۹/۳۶

***، **، ns به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد، معنی‌دار در سطح یک درصد و بی‌معنی می باشد**

۴-۱ وزن خشک گیاه

باتوجه به جدول (۴-۲) بین وزن خشک ریشه تمامی اصلاح کننده‌ها تفاوت غیرمعنی‌دار بود. از طرفی بین وزن خشک اندام هوایی اصلاح کننده بیوچار و بیوچار +قارچ میکوریز با نمونه شاهد تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد مشاهده شد اما بین هیچ کدام از اصلاح کننده‌ها تفاوت معنی-

داری مشاهده نشد، همچنین اصلاح کننده قارچ میکوریز+بیوچار وزن خشک ریشه و اندام هوایی بیشتری را داشتند. بیشترین وزن خشک اندام هوایی به ترتیب مربوط به تیمار ترکیبی قارچ میکوریز+ بیوچار، بیوچار، میکوریز و کمترین مربوط به شاهد بود در واقع قارچ‌های مایکوریزی با بهبود تغذیه و رشد گیاه باعث افزایش عملکرد می‌شوند. به نظر می‌رسد قارچ‌های میکوریزا به عنوان یکی از مهمترین ریزجانداران خاک با برقراری هم‌زیستی با گستره وسیعی از گیاهان به سه شکل اکتومیکوریزا، اندو-میکوریزا و اکتاندومیکوریزا سبب بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه میزبان خود می‌گردند و از این طریق باعث افزایش وزن خشک گیاه می شوند (اسمیت و رید، ۱۹۹۷). قارچ میکوریز از طریق تبدیل فسفر غیرقابل‌جذب به فرم قابل‌جذب و انتقال آن به ریشه گیاه میزبان، سبب افزایش ارتفاع گیاه و عملکرد می‌شوند. همزیستی میکوریزی سبب افزایش تحمل گیاهان میزبان به دمای زیاد، آلودگی قارچ‌های بیماری‌زا و اسیدیته بالای خاک و همچنین تحمل به خشکی می‌شوند و از این طریق رشد گیاه را افزایش می‌دهند و باعث افزایش عملکرد گیاه نسبت به شاهد می‌شوند. از طرفی به نظر می‌رسد بیوچار با دارا بودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از جمله نیتروژن، فسفر، پتاسیم و تأثیر بر خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک باعث بهبود ساختمان خاک، افزایش نفوذپذیری و ظرفیت نگهداری آب در خاک، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی و در نهایت سبب افزایش رشد گیاه و افزایش وزن خشک گیاه شده است. همچنین به علت بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک ریزوسفر که از جمله آن افزایش جذب آب، تهویه و افزایش فراهمی مواد غذایی و همین‌طور افزایش فعالیت ریزجانداران در حضور بیوچار و ترشحات گیاهی و تأثیر سینرژیک این‌ها در افزایش وزن تر و خشک شاخساره گیاه و تعداد ریزجانداران است (لهمان، ۲۰۰۹). کمترین مقادیر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه در تیمارهای دارای آلودگی نفتی مشاهده شد. این پاسخ می‌تواند به سبب بروز تنش آلودگی و صدمات وارده به اجزای مختلف سلول‌های گیاه و در نهایت جذب کمتر عناصر غذایی و آب باشد. اصلاح کننده قارچ میکوریز و قارچ میکوریز+بیوچار با نمونه شاهد و نمونه اصلاح کننده بیوچار به تنهایی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد از نظر تشکیل هیف در ریشه را نشان دادند.

جدول ۴-۲- اثر اصلی اصلاح کننده بر هیف، ریشه و اندام هوایی

تیمار	درصد تشکیل هیف در ریشه	وزن خشک ریشه(گرم در گلدان)	وزن خشک اندام هوایی(گرم در گلدان)
قارچ میکوریز	۶۱/۸۳^{a}	۰/۱۶۲^{a}	۰/۸۹۴^{ab}
بیوچار	۳/۸۳^{b}	۰/۱۹۹^{a}	۱/۰۵^{a}
قارچ میکوریز+بیوچار	۶۲/۰۸^{a}	۰/۲۱۳^{a}	۱/۲^{a}
شاهد	۳/۷۵^{b}	۰/۱۰۱^{a}	۰/۵۰۹^{b}

در هر ستون حروف مشترک غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیر مشترک مشترک معنی‌دار بودن را نشان می دهد.

نتایج تحقیق حاضر با نتایج مصلحی و همکاران (۲۰۱۵)، جهانتاب و همکاران (۱۳۹۵)، رایت و همکاران (۱۹۹۸)، علی آبادی فراهانی و ولدآبادی (۱۳۸۹)، (آرانکون و همکاران (۲۰۰۴) همخوانی دارد.

بیوچار از طریق اثرات مستقیم و غیرمستقیم سبب افزایش عملکرد گیاه و حاصلخیزی خاک می‌گردد. از جمله اثرات مستقیم می‌توان به افزایش مستقیم عناصری مانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر داخل خاک اشاره کرد که به تبع افزایش این عناصر، رشد در قسمت‌های مختلف گیاهان افزایش می-یابد. بیوچار به دلیل داشتن ساختاری متخلخل، سطح ویژه بالا و توانایی آن برای جذب مواد آلی محلول، گازها و مواد مغذی غیرآلی زیستگاهی مناسب برای ریزجانداران خاکزی به شمار می‌رود (لهمان، ۲۰۰۹). علاوه بر آزاد کردن مستقیم فسفر محلول و برخی عناصر غذایی ضروری، بیوچار می-تواند ظرفیت تبادل یونی خاک را افزایش دهد (لی یانگ و همکاران، ۲۰۰۶).

رضائیان (۲۰۱۴)، گزارش داد کاربرد بیوچار به طور معنی‌دار سبب افزایش وزن خشک هوایی شد. همچنین تلقیح مایکوریزای همراه با کاربرد بیوچار در افزایش خاصیت گیاه‌پالایی نعنا فلفی نقش

مؤثری ایفا می‌کند. در اثرات متقابل مایکوریزا و بیوچار گزارش شده که کاربرد بیوچار به طور معنی‌دار سبب افزایش وزن خشک نسبت به شاهد می‌شود.

پیتر و همکاران (۲۰۱۲)، در پژوهشی دوساله بیان کردند کاربرد بیوچار به سرعت باعث افزایش حاصلخیزی خاک شده و با فراهم کردن و حفظ مواد غذایی در خاک سبب افزایش رشد برنج در شالیزارهای برزیل می‌شود. نتایج این پژوهش تأثیر مستقیم و سریع بیوچار بر غلطت کربن آلی را در سال اول و تأثیر معنادار آن بر عملکرد و ماده خشک را در هر دو سال و همچنین بر بهبود خصوصیات فیزیکی و زیستی خاک نشان داد.

بینت و پورتال (۲۰۰۰)، با بررسی وزن خشک و اندام هوایی گیاه علف چاودار در خاک آغشته به ترکیبات نفتی دریافتند که وجود این ترکیبات در خاک باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی می شود.

در طی پژوهشی برنان و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند بیوچار در افزایش وزن خشک ساقه، نسبت به شاهد بیشتر مؤثر واقع شد. همزیستی قارچ های آربوسکولار مایکورایزا در بسیاری از شرایط تنش محیطی دیده شده است. نتایج برخی مطالعات گلخانه‌ای نشان داده است که قارچ‌های آربوسکولار مایکورایزا می‌تواند تحمل به شوری گیاهان و عملکرد وزن خشک را افزایش دهد (اصغری و همکاران، ۲۰۰۸).

کشت گیاه ذرت در دو سطح پایین و بالای فسفر نیز نشان داد که گیاه میکوریزی از رشد بهتر و ماده خشک بیشتری برخوردار بوده است (فنگ و همکاران، ۲۰۰۲). قاضی (۱۹۹۸)، بیان کرد که وزن خشک ریشه و اندام هوایی دو ژنوتیپ گندم دوروم در اثر تلقیح میکوریزایی افزایش نشان می‌دهد و این افزایش در هنگام مواجه گیاه با تنش رطوبتی بسیار بیشتر است.

با توجه به جدول (۴-۳) اثر اصلی گیاه بر وزن خشک ریشه در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده و بر وزن خشک اندام هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده. همچنین گیاه پنیرک نسبت به گیاه شبدر

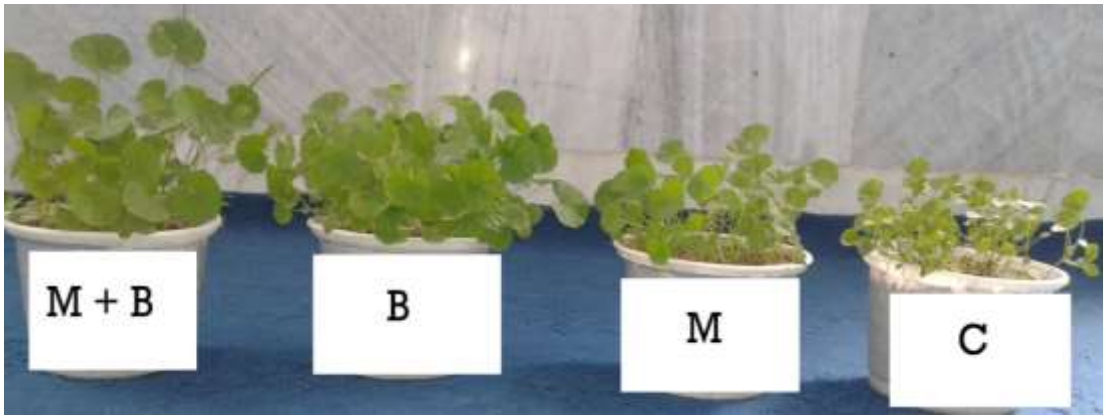
وزن خشک ریشه و اندام هوایی بیشتری را داشته است. اثر اصلی گیاه بر درصد تشکیل هیف در ریشه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود و گیاه شبدر نسبت به گیاه پنیرک درصد تشکیل هیف بیشتری داشت.

جدول ۴-۳- اثر اصلی گیاه بر هیف، ریشه و اندام هوایی

گیاه	درصد تشکیل هیف در ریشه	وزن خشک ریشه (گرم درگلدان)	وزن خشک اندام هوایی (گرم درگلدان)
پنیرک	۲۸/۶۲[b]	۰/۲۲۱[a]	۱/۲۸[a]
شبدر	۳۷/۱۲[a]	۰/۱۱۶[b]	۰/۵۴۹[b]

در هر ستون حروف مشترک غیر معنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک معنی‌دار بودن را نشان می دهد.

شکل۴-۱- میزان رشد گیاه شبدر در پایان هفته هفتم (یک روز قبل از برداشت)، با تیمارهای مختلف: شاهد (C)، بیوچار (B)، قارچ میکوریز (M) و قارچ میکوریز+بیوچار (M+B).



شکل۴-۲- میزان رشد گیاه پنیرک در پایان هفته هفتم (یک روز قبل از برداشت)، با تیمارهای مختلف: شاهد (C)، بیوچار (B)، قارچ میکوریز (M)، قارچ میکوریز+بیوچار (M+B).

اثر ترکیبی گیاه به همراه اصلاح کننده بر هدایت الکتریکی و pH غیرمعنی دار و بر میزان ترکیبات نفتی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۴-۴).

جدول۴- ۴ تجزیه واریانس برای میزان ترکیبات آلی نفتی، هدایت الکتریکی و pH خاک

متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات pH	میانگین مربعات هدایت الکتریکی	میانگین مربعات میزان ترکیبات آلی نفتی
گیاه	۲	۰/۰۹۳**	۰/۱۵۰**	۱.۹×۱۰^{۸}**
اصلاح کننده	۳	۰/۰۲۵*	$۰/۰۵۸^{ns}$	۲.۴×۱۰^{۵}**
گیاه*اصلاح کننده	۶	$۰/۰۰۹^{ns}$	$۰/۰۳۴^{ns}$	۶.۴×۱۰^{۴}*
خطا	۲۴	۰/۰۰۷	۰/۰۲۲	۲.۰۶×۱۰^{۴}

***، **، ns به ترتیب معنی دار در سطح پنج درصد، معنی دار در سطح یک درصد و بی معنی می باشد.**

۴-۲ هدایت الکتریکی و pH خاک

با توجه به جدول (۴-۵) اثر اصلی اصلاح کننده بر هدایت الکتریکی غیرمعنی‌دار بوده. اثر اصلاح کننده‌ها بر میزان pH در سطح پنج درصد معنی‌دار بوده است. بین اصلاح کننده قارچ میکوریز با نمونه شاهد از نظر pH تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد مشاهده شد. اما بین تیمارهای بیوچار و بیوچار+قارچ میکوریز با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با نتایج جهانتاب و همکاران (۱۳۹۵) همخوانی دارد. اثر اصلی اصلاح کننده بر میزان ترکیبات آلی نفتی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بین هر سه اصلاح کننده با نمونه شاهد از نظر میزان کاهش ترکیبات آلی نفتی تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد اما بین هیچ یک از اصلاح کننده‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. از طرفی اصلاح‌کننده قارچ میکوریز+بیوچار بیشترین میزان کاهش ترکیبات آلی نفتی را داشتند.

جدول ۴-۵- اثر اصلی اصلاح کننده بر میزان ترکیبات آلی نفتی، هدایت الکتریکی و pH خاک

تیمار	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس برمتر)	PH	میزان ترکیبات آلی نفتی (میلی گرم درکیلوگرم)
قارچ میکوریز	۱/۹۳^{a}	۸/۱۸^{a}	۲۸۳۳۳^{b}
بیوچار	۲/۱۰^{a}	۸/۰۶^{b}	۲۷۲۲۲^{b}
قارچ میکوریز+بیوچار	۲/۰۸^{a}	۸/۰۹^{b}	۲۶۷۷۸^{b}
شاهد	۲/۰۰^{a}	۸/۰۹^{b}	۳۷۸۸۹^{a}

در هر ستون حروف مشترک غیرمعنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک معنی‌دار بودن را نشان می دهد.

باتوجه به جدول (۴-۶) اثر اصلی گیاه بر هدایت الکتریکی در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است. بین گیاه پنیرک با نمونه شاهد و گیاه شبدر تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد اما بین گیاه شبدر با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. از طرفی گیاه پنیرک باعث افزایش هدایت الکتریکی شده است. بین هر دو گیاه شبدر و پنیرک با نمونه شاهد از نظر میزان pH تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد مشاهده شد اما بین دو گیاه شبدر و پنیرک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و هر دو گیاه باعث کاهش میزان pH شدند. همچنین بین هر دو گیاه با نمونه شاهد از نطر میزان ترکیبات آلی نفتی تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد مشاهده شد اما بین دو گیاه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد از طرفی گیاه پنیرک کاهش بیشتر میزان ترکیبات آلی نفتی را نسبت به گیاه شبدر نشان داد.

جدول ۴-۶- اثر اصلی گیاه بر میزان ترکیبات آلی نفتی، هدایت الکتریکی و pH خاک

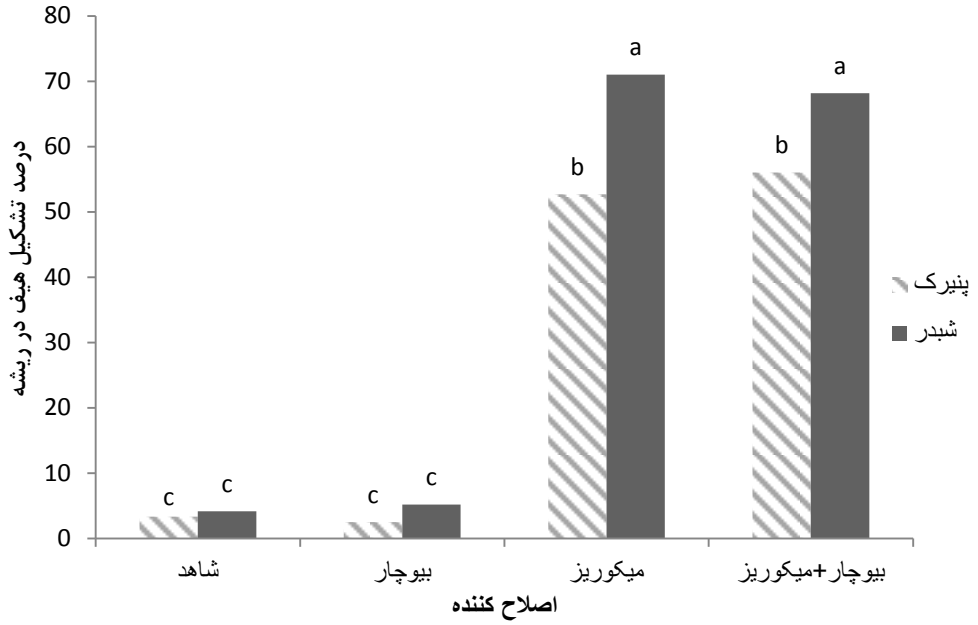
گیاه	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس برمتر)	pH	میزان ترکیبات آلی نفتی (میلی گرم درکیلوگرم)
پنیرک	۲/۱۵^{a}	۸/۰۴^{b}	۲۲۵۴۲^{b}
شبدر	۱/۹۹^{b}	۸/۰۷^{b}	۲۳۰۴۲^{b}
شاهد (بدون گیاه)	۱/۹۴^{b}	۸/۲۱^{a}	۴۴۵۸۳^{a}

در هر ستون حروف مشترک غیر معنی‌دار بودن و حروف غیرمشترک معنی‌دار بودن را نشان می دهد.

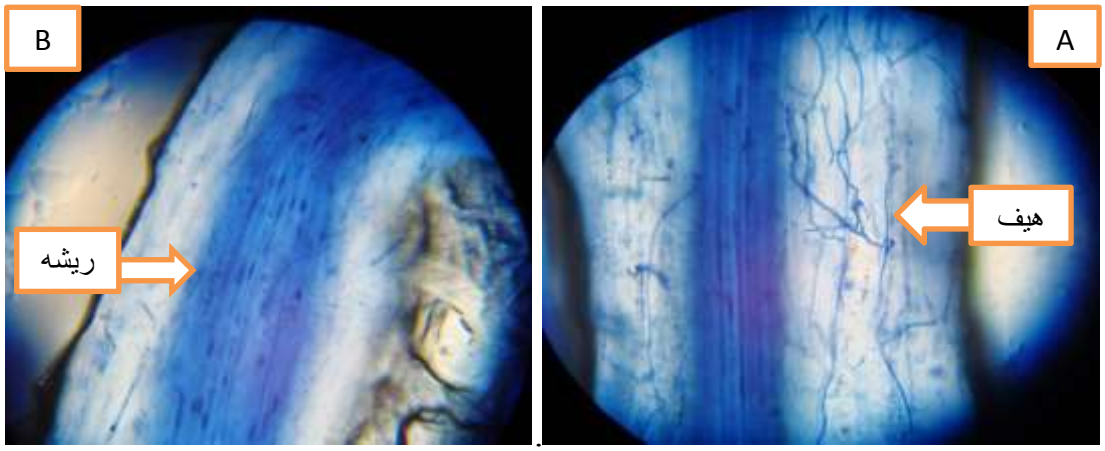
۴-۳ درصد تشکیل هیف در ریشه

شکل۴-۴ و ۴-۵ تشکیل هیف قارچی در دو تیمار پنیرک و شبدر را نشان می‌دهد. درصد کم هیف تشکیل شده در ۲ تیمار شاهد و بیوچار به دلیل وجود قارچ‌های بومی در خاک بوده است. در تیمارهای حاوی قارچ میکوریزا درصد تشکیل هیف در گیاه شبدر به طور معنی‌داری بیش از گیاه پنیرک بوده است.

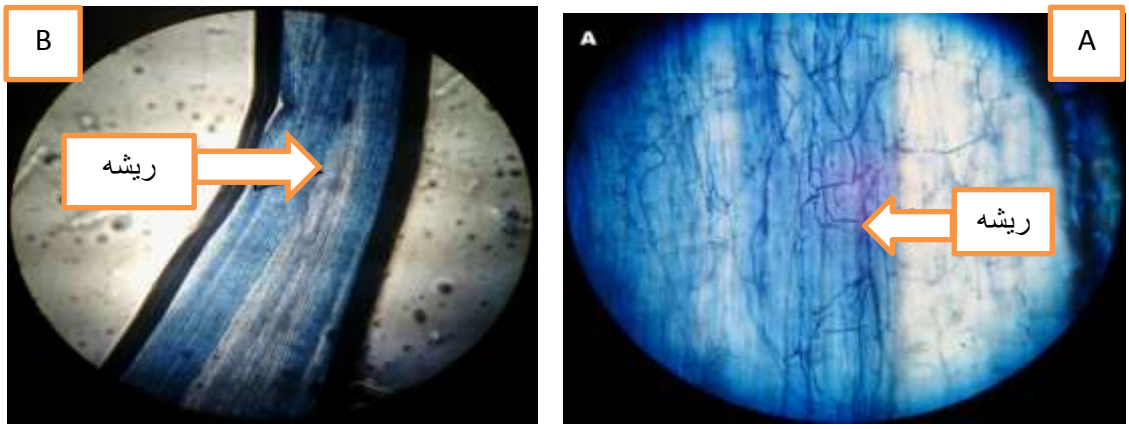
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر گیاه، اصلاح کننده و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد تشکیل هیف در ریشه به لحاظ آماری معنی‌دار بوده است. به این صورت که اثر گیاه و اصلاح کننده در سطح یک درصد و اثر متقابل گیاه و اصلاح کننده در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول۴-۳). باتوجه به نتایج بدست آمده اصلاح کننده قارچ میکوریز+بیوچار و اصلاح کننده قارچ میکوریز به تنهایی بیشترین درصد تشکیل هیف در ریشه را داشت در صورتی که اصلاح کننده بیوچار و شاهد تأثیری بر تشکیل هیف در ریشه نداشتند افزودن بیوچار به تیمار حاوی قارچ میکوریز سبب کاهش درصد تشکیل هیف شده است در مقایسه با تیمار فاقد بیوچار معنی‌دار نبوده است (شکل۴-۳). این کاهش اندک به دلیل افزایش سطح شوری در اثر افزودن بیوچار به خاک بوده است. از آنجایی که شوری رشد و میزان تولید کربوهیدرات را کاهش می‌دهد، میزان همزیستی مایکوریزایی در تیمار بیوچار هم کم خواهد شد. شوری باعث کاهش درصد کلونیزاسیون، جوانه‌زنی اسپورها و رشد هیف-های قارچی می‌شود، در واقع افزایش میزان شوری میزان کلونیزاسیون را کاهش می‌دهد (تامیز سلواک‌موار،۲۰۱۱).



شکل ۴-۳- تأثیر گیاه و ماده اصلاحی بر درصد تشکیل هیف حروف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (P<0.05).



شکل۴-۴- ریشه های درهم تنیده هیف در گیاه پنیرک به همراه اصلاح کننده قارچ میکوریز، تصویر سمت راست (A) و تصویر سمت چپ (B) گیاه پنیرک فاقد اصلاح کننده در خاک آلوده به ترکیبات نفتی می باشد.



شکل۴-۵- ریشه های درهم تنیده هیف در گیاه شبدر به همراه اصلاح کننده قارچ میکوریز، تصویر سمت راست (A) و تصویر سمت چپ (B) گیاه شبدر فاقد اصلاح کننده در خاک آلوده به ترکیبات نفتی می باشد.

نتایج بدست آمده با نتایج (حاج بابایی و انتشاری، ۲۰۱۱)، (حتمی و همکاران، ۱۳۹۶) هم-خوانی دارد.

سادات و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند که درصد کلونیزاسیون ریشه گندم در اثر تلقیح با قارچ‌های مایکوریزی نسبت به عدم تلقیح افزایش یافت. در تلقیحی دیگر نیز گزارش شد که در تیمارهای بدون تلقیح هیچ کلونیزاسیونی از مایکورایزا در ریشه ها مشاهده نشده است (اصغری و همکاران، ۲۰۰۵).

در حالت عادی، افزایش در pH خاک و شوری، میزان کلونیزاسیون و تراکم اسپور قارچ را کاهش می‌دهد (لیان و همکاران، ۲۰۰۷). در شرایط تنش شوری، ریشه کلونیزه شده با قارچ‌های مایکوریزا کاهش می‌یابد که شاید به دلیل اثر مستقیم شوری بر رشد و فعالیت قارچ باشد که رشد قارچ های مایکورایزا را متوقف می‌کند (ایولین و همکاران، ۲۰۰۹).

یکی از محققین برای اولین بار به آثار مثبت رابطه همزیستی میکوریزایی بر افزایش رشد گیاهان لگوم تلقیح شده با قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم اشاره نمود (اسمیت و رید، ۱۹۹۷).

۴-۴ میزان ترکیبات آلی نفتی

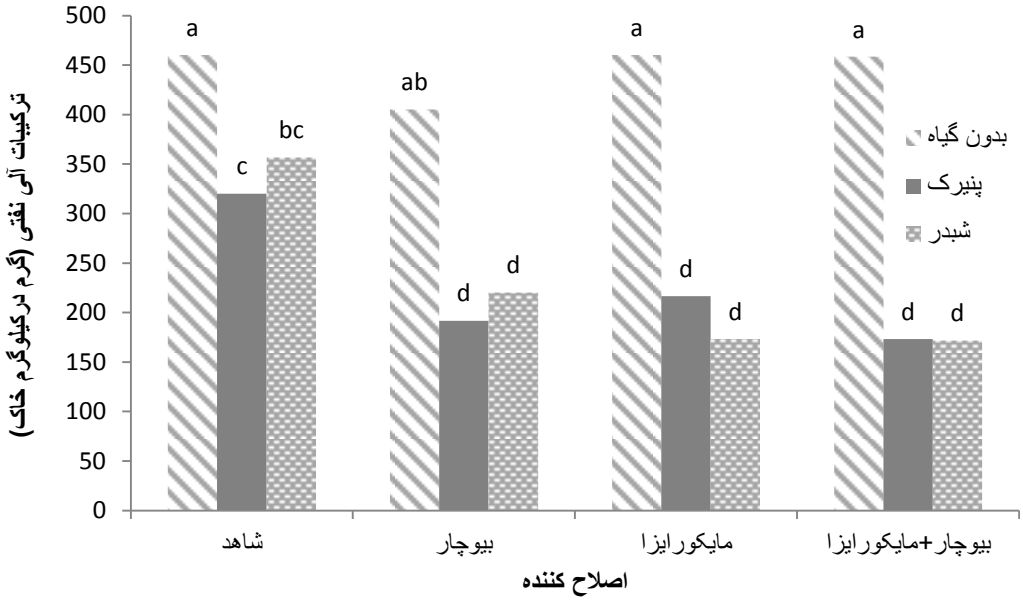
میزان ترکیبات نفتی اولیه در یک کیلو خاک آلوده ۶۸/۵ گرم درکیلوگرم می‌باشد. تیمارهای بدون گیاه باعث کاهش۲۲/۵ گرمی میزان ترکیبات نفتی کل شدند که احتمال می رود به دلیل آبیاری و نگهداری در شرایط کاملا طبیعی تابش نور خورشید و جریان وزش باد و دیگر عوامل طبیعی باشد.

هر دو گیاه مورد مطالعه سبب کاهش معنی‌دار غلظت ترکیبات نفتی در خاک در همه تیمارهای اصلاحی شد (شکل۴-۶). گیاه پنیرک نسبت به شبدر و شبدر نسبت به شاهد (بدون گیاه) به ترتیب تاثیر بیشتری در کاهش میزان نفت داشتند. همچنین اثر ترکیبی قارچ میکوریز + بیوچار نسبت به بقیه اصلاح کننده ها تاثیر بیشتری را بر کاهش میزان ترکیبات نفتی خاک داشت اما معنی-دار نبود .

گیاه شبدر به دلیل ریشه های زیاد و همچنین همزیستی بسیار بالایی که با قارچ میکوریز دارد باعث کاهش بسیار خوب میزان ترکیبات آلی نفتی نسبت به شاهد شده است. درواقع قارچ میکوریز نقش مؤثری در افزایش عملکرد به واسطهٔ افزایش جذب فسفر به دلیل توسعه ریشه و اثرات سینرژیسم بین باکتری‌های حل کننده فسفات با قارچ میکوریز و افزایش تثبیت نیتروژن به دلیل اثر سینرژیسمی بین قارچ‌های میکوریز و باکتری های ریزوبیومی درتثبیت ازت و افزایش گرهک‌های تثبیت کننده ازت ریشه‌ای دانست (رومرو و همکاران، ۱۹۹۸). همچنین این گیاه به دلیل همزیستی بسیار خوبی که با قارچ میکوریز دارد باعث افزایش بازده آب مصرفی در شرایط طبیعی می‌شود (آقابابائی و رئیسی، ۱۳۸۸). شبدر سفید تولید ریشه و بیوماس سطحی خیلی کمی دارد، با این حال شبدر سفید بالاترین سرعت تجزیه ی هیدروکربن را در مزرعه داشت (بانکز و همکاران، ۲۰۰۰). قارچ-های میکوریز با افزایش جذب عناصر غذایی مفید و عناصر کم‌مصرف غیرمتحرک در خاک باعث افزایش تولید ماده‌ی خشک در گیاه هم‌زیست و نیز افزایش بازده آب مصرفی شوند (آقابابائی و رئیسی، ۱۳۸۸).

گیاه پنیرک به همراه قارچ میکوریز باعث کاهش معنی‌دار غلطت ترکیبات آلی نفتی خاک شد. اثر کاربرد بیوچار بر کاهش غلظت ترکیبات نفتی در خاک معنی‌دار بوده است به طور کلی بیوچار با فراهم نمودن شرایط رشد بهینه برای گیاه، به جذب آلاینده‌ها توسط گیاه و در نهایت به ارتقاء فرایند گیاه‌پالایی کمک می‌کنند. در پژوهشی اثرات بیوچار کاه برنج در تجزیه زیستی آلاینده خاک و جمعیت میکروبی در یک دوره ۱۸۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که خاک اصلاح شده با بیوچار نسبت به خاک فاقد بیوچار در حذف هیدروکربن‌های نفتی مؤثر تر بوده است و همچنین اثرات مثبتی بر جمعیت میکروبی داشته است (گانگ و همکاران، ۲۰۱۳). در طی پژوهشی (زو و همکاران، ۲۰۱۴) نتیجه گرفتنند که میزان پالایش آلاینده و نیز فراهمی عناصر با حضور تیمارهای بیوچار و باکتری، بهبود یافته است و همین امر نشان دهنده نقش بیوچار و باکتری در موفقیت زیست‌پالایی است.

تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان ترکیبات نفتی نشان داد بین تیمارپنیرک وشبدر با شاهد تفاوت معنی‌دار و بین شبدر با پنیرک تفاوت غیرمعنی‌دار وجود داشت. از طرفی در تیمار قارچ میکوریز به تنهایی و تیمار ترکیبی میکوریز به همراه بیوچار تفاوت معنی‌دار تیمار کشت شبدر و پنیرک با شاهد مشاهده شد. در واقع قارچ میکوریز نقش خود را در افزایش تجزیه آلاینده‌های آلی از راه تغیر ساختار میکروبی ریزوسفر و میکوریزوسفر، ایجاد محیط مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم ها بواسطه‌ی افزایش حجم ریشه و ریزوسفر و افزایش ترشحات ریشه اعمال می‌کند. از طرفی قارچ‌های میکوریزی در افزایش توانایی گیاه در جذب بیشتر عناصر معدنی و آب نقش داشته و از این طریق باعث رشد بهتر گیاه و جذب آلاینده‌ها از خاک آلوده نسبت به نمونه شاهد می‌شوند.



شکل۴-۶- تأثیر گیاه و ماده اصلاحی بر غلظت ترکیبات آلی نفتی در کیلوگرم خاک، حروف مشترک غیر-معنی‌داربودن و حروف غیرمشترک معنی‌دار بودن را در سطح ۵ درصد نشان می دهند ($P<0.05$).

در تحقیق حاضر مشخص شد که دو گونه گیاه استفاده شده که از گونه گیاهان بومی منطقه گچساران است توانایی خوبی در پالایش خاک‌های آلوده نفتی دارند. در همین راستا، کیارستمی و همکاران (۲۰۱۳)، اظهار داشتند گیاهان بومی به دلیل سازگاری اکولوژیکی در محیط آلوده، کم-هزینه‌ترین و تاثیر گذارترین گیاهان برای پایش خاک هستند. در این پژوهش تمام گیاهان و اصلاح-کنندگان در حضور گیاه در پالایش هیدروکربن‌های نفتی مؤثر واقع شده‌اند و شدت پالایش تحت تأثیر گیاه و اصلاح کننده‌های مختلف متفاوت بوده است. محسن زاده و همکارانش (۲۰۰۹) بیان کردند میزان آلودگی نفتی پالایشگاه کرمانشاه در خاک بدون پوشش گیاهی تقریباً سه مرتبه بیشتر از خاک دارای پوشش گیاهی است. این موضوع اثر و اهمیت پوشش گیاهی در پاکسازی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی را نشان می دهد که نتایج پژوهش حاضر حاکی از تأیید این امر است.

بشارتی (۱۳۹۲)، طی پژوهشی نتیجه گرفتند که در حضور گیاه یونجه تجزیه هیدروکربن‌های نفتی در مقایسه با شاهد بیشتر بود. در آزمایشی در حضور ذرت، تجزیه زیستی هیدروکربن‌های نفتی تا ۲۰ درصد افزایش یافت (چاینو و همکاران، ۱۹۹۷).

پژوهش‌ها نشان داده که پوشش گیاهی می‌تواند موجب کاهش آلودگی خاک به ترکیبات نفتی گردد (کانینگهام، ۱۹۹۶). ترشحات ریشه‌ای در گیاه‌پالایی آلاینده‌های آلی نقش مهمی را بازی می‌کنند. کایمی و همکاران (۲۰۰۷) فرض کردند که بقایای ترشحات گیاهان برای پاکسازی آلاینده-های خاک شرکت می‌کنند. وایلست و همکاران (۱۹۹۸) نیز دریافتند که گونه‌های مختلف یونجه اثری مثبت بر کاهش غلظت آلاینده‌های ناشی از نفت خام در خاک دارد. به شکلی که در حضور این گیاهان کاهش حدود ۳۳ تا ۵۶ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در مقایسه با تیمار شاهد بدون گیاه مشاهده شد. طبق گفته ی سرکار و همکاران میزان در دسترس بودن زیستی مواد غذایی تنها عامل مؤثر تجزیه ی TPH نیست (سرکار و همکاران ۲۰۰۵).

ادسدون و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزودن فضولات خوکی، مرغی و گاوی بر خاک آلوده به روغن سوخته را بررسی کردند و بیان کردند که این مواد موجب تحریک زیستی این هیدروکربن‌ها می‌شود و کود گاوی در بلند مدت بیش ترین نرخ حذف TPHرا داشته 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 غلظت های هیدروکربن نفتی (TPH) به گیاه یونجه و چمن به ویژه در بیشترین سطح تراکم آن ها مربوط بود که در بیشترین سطح تراکم خود به ترتیب ۶۴/۴ و ۶۰/۳۶ درصد غلظت TPH را نسبت به غلطت اولیه‌ی کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک کاهش دادند. بنکز و همکاران (۲۰۰۳) در طی آزمایشات صحرایی در کالیفورنیا با تال‌فسکیو و مخلوط چمن‌های محلی و لگوم‌ها، دریافتند که مخلوط حاوی لگوم ها فقط ۱۸-۱۲ درصد کاهش را در غلظت TPH نشان می دهند، در حالیکه این کاهش در تال فسکیو ۶۵ درصد بوده است.

کایمی و همکاران (۲۰۰۶) رای گراس را گیاهی مقاوم به نفت گزارش کردند که در خاک‌های شور و قلیایی به خوبی رشد می‌کند. این پژوهشگران نشان دادند ریشه‌های رای‌گراس در افزایش تجزیه‌ی زیستی خاک آلوده به نفت دیزل مؤثر هستند.

ندونوری و همکاران (۲۰۰۰) اثر حضور گیاهان مختلف بر کاهش غلظت TPHs در خاک طی فرایند گیاه‌پالایی را مورد بررسی قرار دادند و دو گیاه رای‌گراس و آگوستین‌گرس را جهت پالایش خاک‌های آلوده به نفت منطقه مورد مطالعه ی خود پیشنهاد نمودند. مرکل و همکاران (۲۰۰۵) نیز گیاه علفی Brachiaria brizantha را به عنوان پاسخ بهینه برای کاهش غلظت ترکیبات نفتی از خاک نسبت به دیگر گیاهان مورد مطالعه‌ی خود معرفی کردند.

نجفی (۱۳۹۳) در طی پژوهشی نشان داد که میکروارگانیسم ها طی پنج روز سطح TPH را از مقدار اولیه ۸۳ppm به مقدار نهایی ۳۰ppm کاهش دادند که این امر نشان دهنده کارایی ۶۳ درصدی باکتری‌ها در زمینه حذف و تصفیه هیدروکربن‌های نفتی است. همچنین نتایج آزمایش دیگری با شرایط عملیاتی مشابه نشان داد که سطح TPH طی ده روز از ۱۳۸ppm به مقدار نهایی ۷ppm کاهش یافت که این امر نشان دهنده کارایی ۹۴ درصدی باکتری‌ها در حذف هیدروکربن-هاست.

۴-۵ میزان تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای

در این پژوهش تجزیه ۱۶ ترکیب ۵-۲ حلقه ای (نفتالن، آسنفتیلن، آسنفتن، فلورن، فنانترن، آنتراسن، فلورانتن، پایرن، بنزو (a) آنتراسن، کرایسن، بنزو (b) فلورانتن، بنزو (k) فلورانتن، بنزو (a) پایرن، بنزو (ghi) پریلن، ایندنو (۱,۲,۳-cd) پایرن و دی بنزو (a) آنتراسن) توسط تیمارهای مختلف و دوگیاه بومی منطقه بررسی شده است. به منظور سهولت بررسی تغییرات نرمال آلکان‌ها، بر اساس نزدیکی ترکیب شیمیایی آنها، در ۶ دسته به ترتیب زیر تقسیم‌بندی شدند (هو و همکاران، ۲۰۰۰).

C۱۰-C۱۲ ، C۱۳- C۱۴ ، C۱۵-C۱۶ ، C۱۷-C۱۸ ، C۱۹-C۲۰ ، C۲۱-C۲۲ .

C۱۰-C۱۲ شامل (بنزو(ghi) بریلن و دی بنزو(a) آنتراسن)،

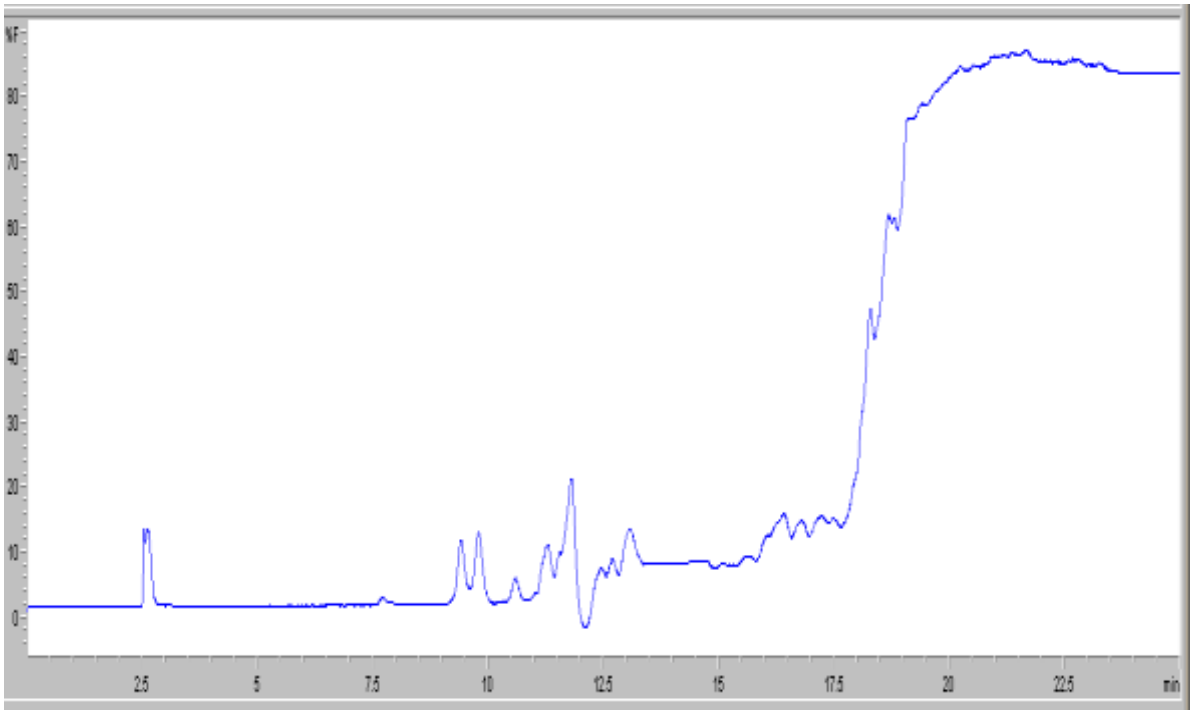
C۱۳- C۱۴ شامل (بنزو(b)فلورانتن، بنزو(k) فلورانتن و بنزو(a) پایرن)،

C۱۵-C۱۶ شامل (بنزو(a) آنتراسن و کرایسن)،

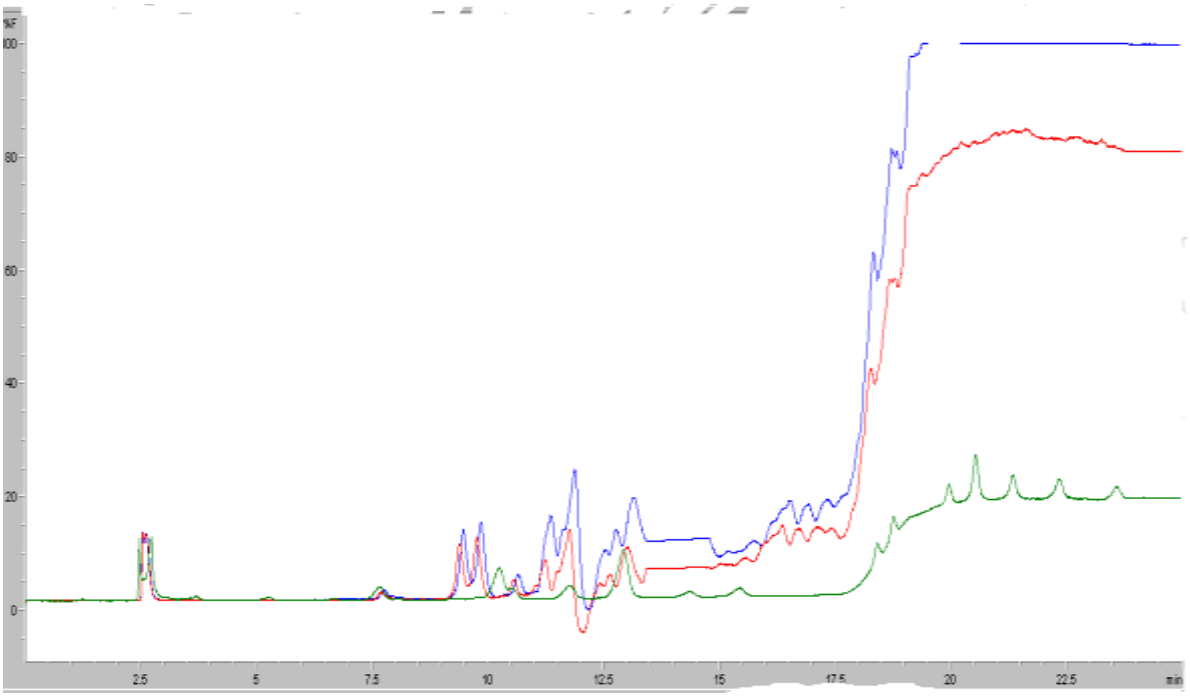
C۱۷-C۱۸ شامل (فلورانتن و پایرن)،

C۱۹-C۲۰ شامل (فلورن، فنانترن و آنتراسن)،

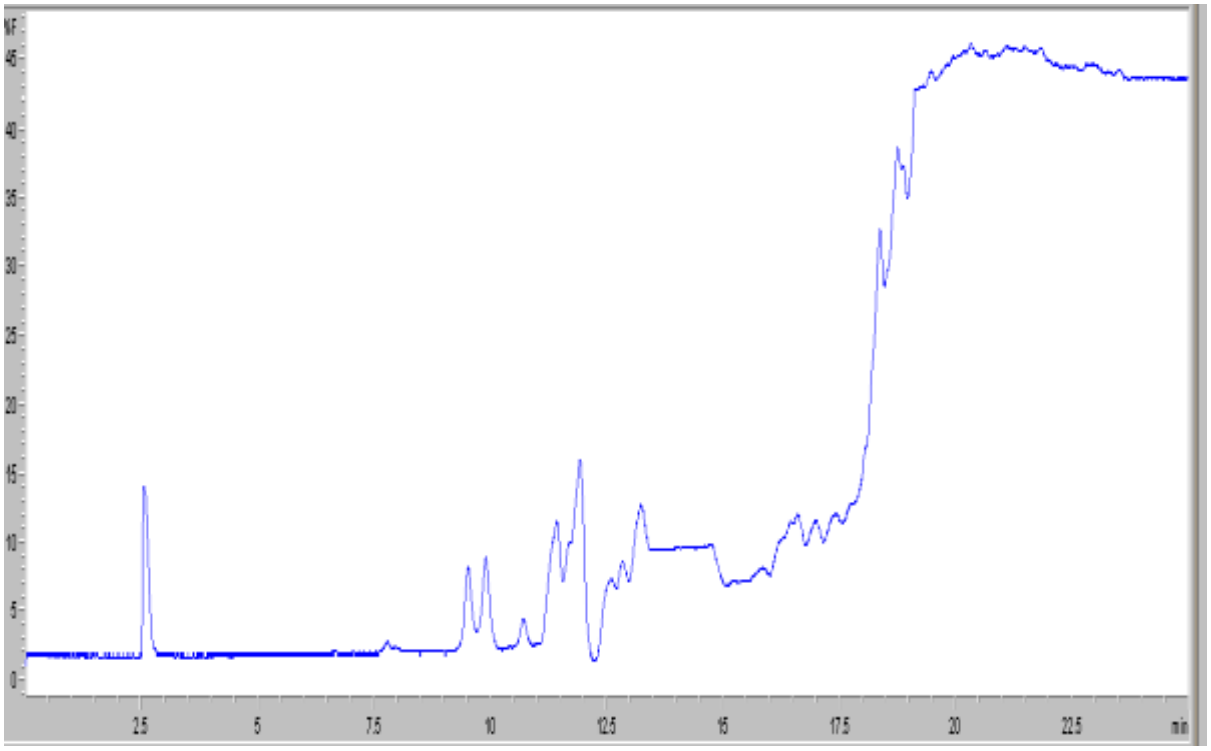
C۲۱-C۲۲ شامل (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) می باشند.



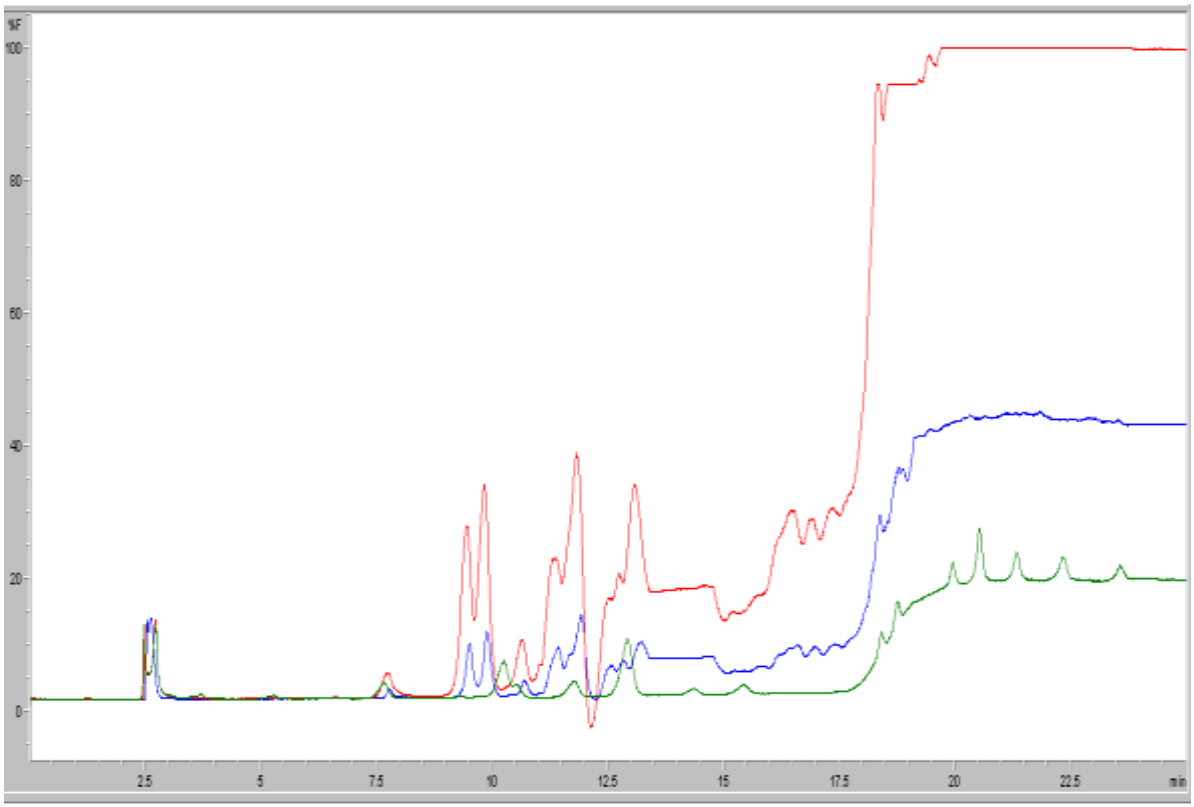
شکل۴-۷: کروماتوگرافی نمونه شبدر به همراه اصلاح کننده قارچ.



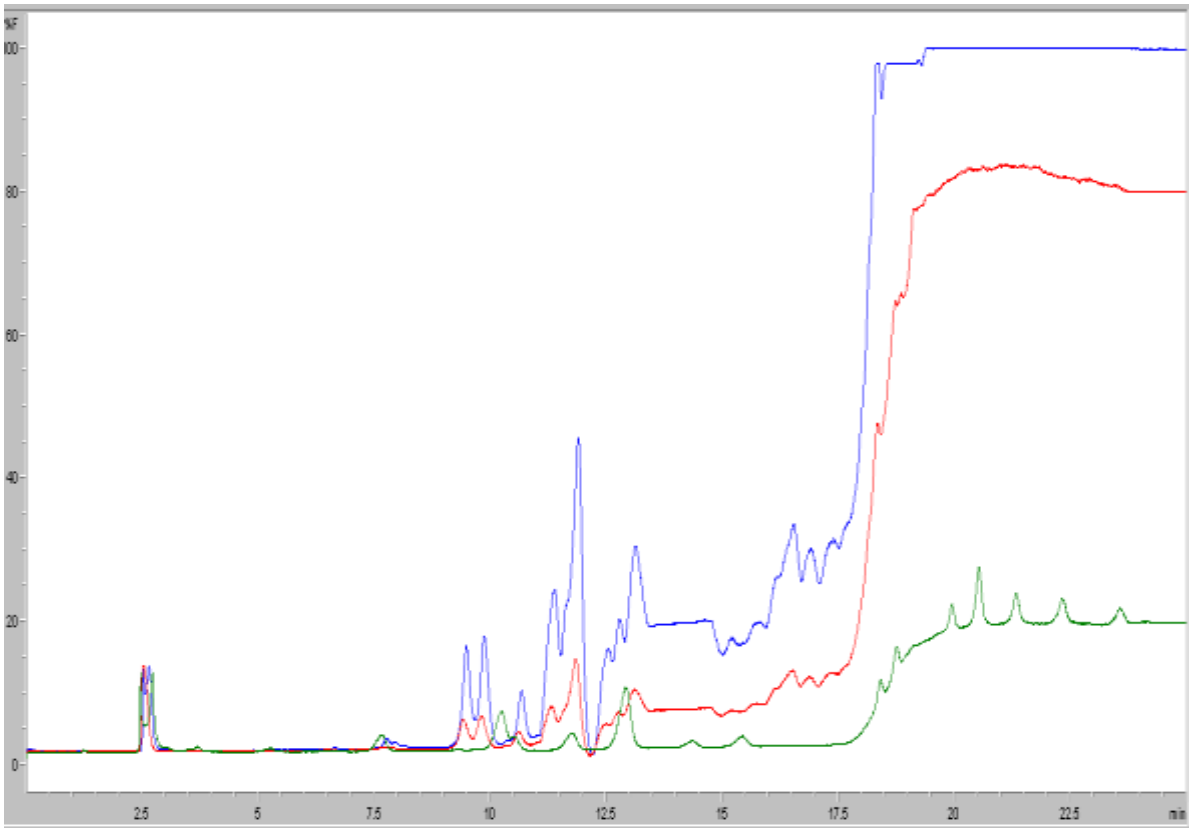
شکل۴-۸: کروماتوگرافی نمونه شبدر.



شکل۴-۹: کروماتوگرافی نمونه پنیرک.



شکل۴-۱۰: کروماتوگرافی نمونه پنیرک به همراه اصلاح کننده بیوچار.



شکل۴-۱۱: کروماتوگرافی نمونه شاهد.

شکل های ۴-۷ تا ۴-۱۱ نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی ترکیبات نفتی خام در تیمارهای بیوچار، قارچ میکوریز، شبدر، پنیرک و شاهد را نشان می‌دهد (هو وهمکاران، ۲۰۰۰).

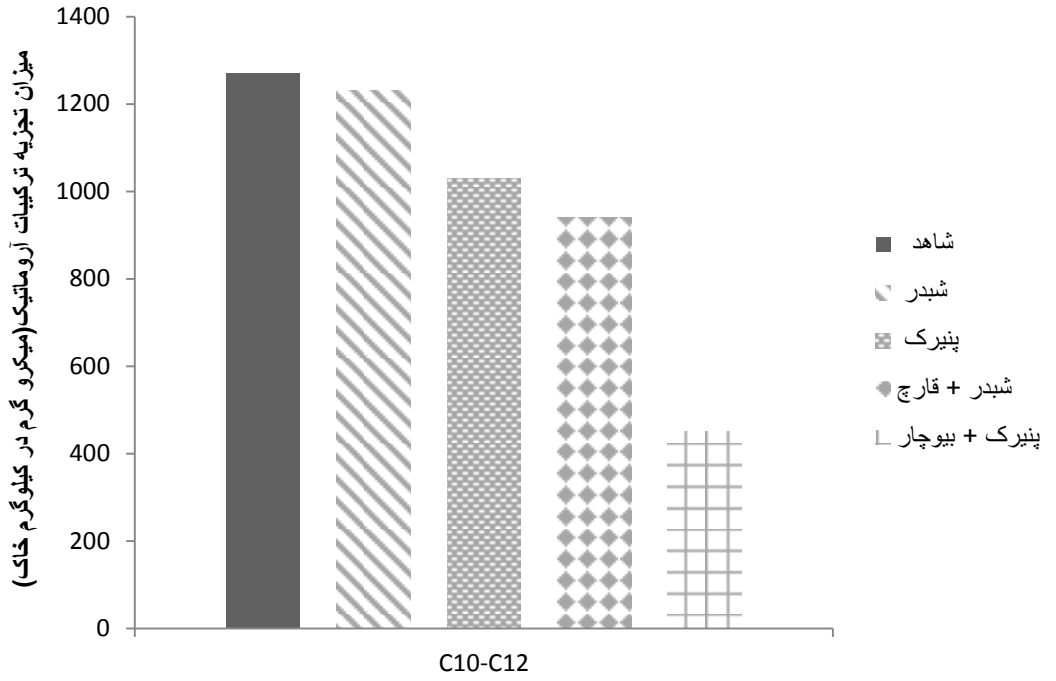
در شکل‌های ۴-۸، ۴-۱۰ و ۴-۱۱ سه کروماتوگرافی مشاهده می شود که رنگ سبز استاندارد است و رنگ آبی و قرمز مربوط به نمونه در دو حجم تزریقی مختلف است، به دلیل اشباع شدن زمینه در بعضی از نمونه‌ها دو حجم غلظتی تزریق می‌گردد تا بتوان تمام ترکیبات را اندازه‌گیری کرد.

در تمامی تیمارهای مورد مطالعه با توجه به شکل‌های ۴-۱۷-۴-۱۲ بیشترین تجزیه ترکیبات PAH مربوط به فلورانتن و پایرن و کمترین تجزیه مربوط به فلورن، فنانترن و آنتراسن می‌باشد. روند تجزیه در تمامی این تیمارها به ترتیب زیر می باشد.

C17-C18>C13-C14>C10-C12>C21-C22>C15-C16>C19-C20

ترکیب ایندنو (۱,۲,۳-cd) پایرن در هیچ کدام از ۵ نمونه مشاهده نشد که احتمال می‌رود به دلیل فرار بودن آن باشد.

بررسی آلکانهای C۱۰-C۱۲ (بنزو(ghi) بریلن و دی بنزو(a) آنتراسن) نشان داد در تیمار شاهد بدون گیاه کمترین میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک مشاهده شد و گیاه پنیرک + بیوچار بیشترین میزان تجزیه داشت، پس از آن به ترتیب تیمار شبدر+ قارچ، پنیرک و شبدر بیشترین میزان تجزیه را نسبت به شاهد نشان دادند. ترکیبات آروماتیک در گیاه پنیرک+بیوچار نسبت به تیمار شاهد افزایش تجزیه ۶۴/۵۶ درصدی و نسبت به نمونه پنیرک ۵۶/۳۱ درصدی ترکیبات آروماتیک (بنزو(ghi) بریلن و دی بنزو(a) آنتراسن) را داشت. همچنین تیمار شبدر+قارچ نسبت به تیمار شاهد و تیمار شبدر به ترتیب افزایش تجزیه ۲۵/۹۸ و ۲۳/۵۷ درصدی ترکیبات آروماتیک (بنزو(ghi) بریلن و دی بنزو(a) آنتراسن) را داشت. از طرفی تیمار پنیرک و شبدر نسبت به شاهد به ترتیب افزایش تجزیه ۱۸/۸۹ و ۰.۰۸ درصدی ترکیبات (بنزو(ghi) بریلن و دی بنزو(a) آنتراسن) را داشت (شکل ۴-۱۲). با توجه به تحقیقات انجام گرفته چنین به نظر می‌رسد که میزان تجزیه ۱۶ترکیب نامبرده شده در خاک آلوده به نوع ترکیب PAHs و نیز نوع گونه گیاهی بستگی دارد (شواب و بانکز، ۱۹۹۴). همچنین به نظر می رسد گیاه پنیرک به علت داشتن ریشه‌های مقاوم‌تر نسبت به شبدر در تمامی ترکیبات توانایی تجزیه بیشتری را داشته است.

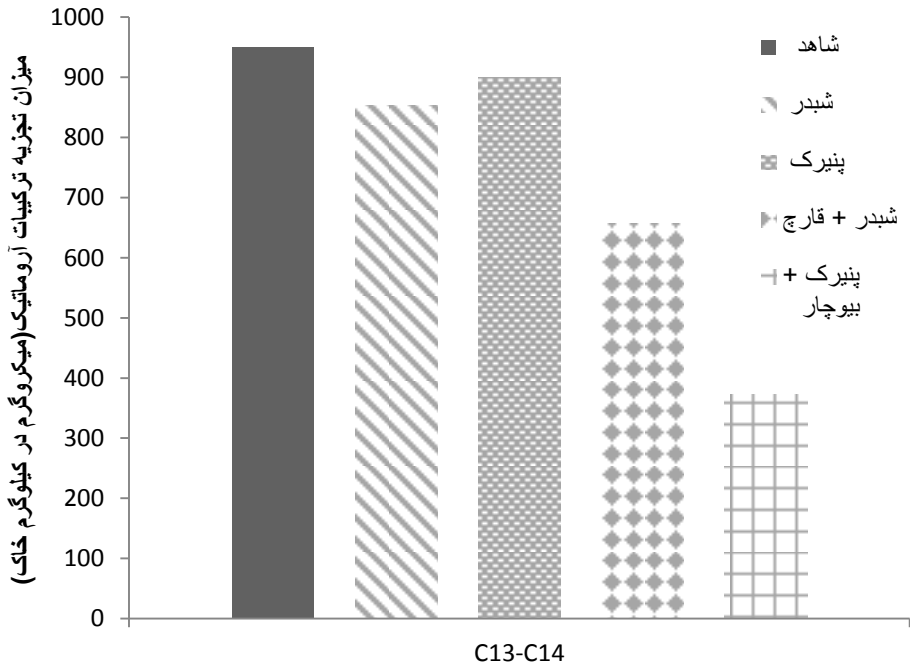


شکل ۴-۱۲- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (بنزو (ghi) پریلن و دی بنزو (a) آنتراسن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک ، شبدر و شاهد.

بررسی آلکانهای C۱۳-C۱۴ (بنزو(b) فلورانتن، بنزو(k) فلورانتن و بنزو(a) پایرن) نشان داد درهر دو نمونه شبدر و پنیرک نسبت به شاهد افزایش تجزیه ترکیبات آروماتیک مشاهده شد. تیمار پنیرک+بیوچار بیشترین میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک را داشت پس از آن به ترتیب شبدر+قارچ، شبدر، پنیرک و شاهد بیشترین میزان تجزیه را داشت. در تیمار پنیرک+بیوچار نسبت به شاهد و پنیرک به ترتیب افزایش تجزیه ۶۰/۸۴ و ۵۵/۵۷ درصدی ترکیبات (بنزو(b) فلورانتن، بنزو(k) فلورانتن و بنزو(a) پایرن) را داشت. تیمار شبدر+قارچ نسبت به شاهد و شبدر به ترتیب افزایش تجزیه ۳۰/۷۳ و ۲۰/۶۳ درصدی (بنزو(b) فلورانتن، بنزو(k) فلورانتن و بنزو(a) پایرن) را نشان داد. تیمار پنیرک و شبدر نسبت به شاهد به ترتیب افزایش تجزیه ۵/۲۶ و ۱۰/۱ درصدی(بنزو(b) فلورانتن، بنزو(k) فلورانتن و بنزو(a) پایرن) را داشت (شکل ۴-۱۳). احتمالاً قارچ‌های مایکوریزا قادر به استفاده از هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک بعنوان منبع کربن و انرژی بوده و با تولید بیوسورفاکتانت-هایی، باعث تجزیه و تخریب ساختمان شیمیایی این ترکیبات گردیده و می‌توانند این مواد آلی را با درصدهای مختلفی، تجزیه کرده و تولید CO_2 و H_2O و مواد بی‌ضرر دیگر نمایند (ابد لطیفی،

۲۰۰۹). در مطالعه‌ای بر روی یونجه و ۳ گونه از گرامینه‌ها شامل فستوکای بلند، علف سودانی و علف-سوئیچ مشاهده شد که این گیاهان به طور معنی‌داری غلظت PAHs را نسبت به خاک های بدون گیاه به میزان ۳۰ تا ۴۰ درصد کاهش دادند (ریلی و همکاران (۱۹۹۶).

حضور رای‌گراس (Lolium multiflorum) تجزیه ی رایزوسفری آلاینده‌ها در خاک آلوده به فنانترن و بنزوپایرن را افزایش داد (دینگ و همکاران، ۲۰۰۴).

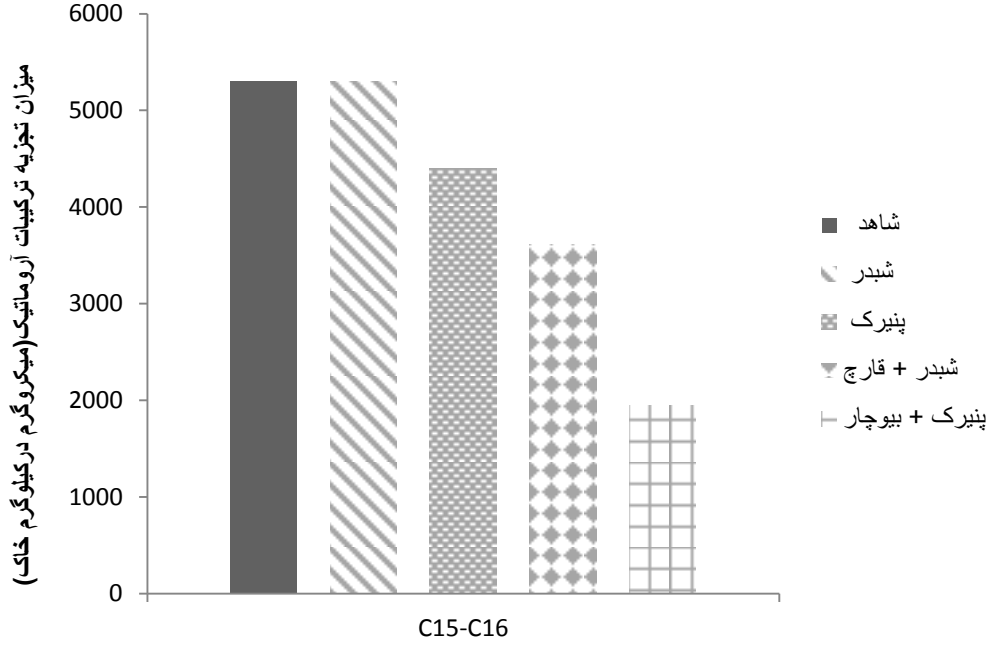


شکل ۴-۱۳- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (بنزو (b) فلورانتن، بنزو (k) فلورانتن، بنزو (a) پایرن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک ، شبدر و شاهد.

بررسی آلکانهای C۱۵-C۱۶ (بنزو(a) آنتراسن و کرایسن)، نشان داد بین شاهد بدون‌گیاه و شبدر شاهد هیچ گونه اختلافی دیده نشد و تیمار پنیرک+بیوچار بیشترین میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک و پس از آن به ترتیب شبدر+قارچ و پنیرک شاهد بیشترین مقدار تجزیه را داشتند اما در تیمار شبدر شاهد هیچ گونه تجزیه‌ای مشاهده نشد. تیمار پنیرک+بیوچار نسبت به شاهد و پنیرک به ترتیب افزایش تجزیه ۶۳/۳۹ و ۵۵/۹ درصدی (بنزو(a) آنتراسن و کرایسن) را داشتند (شکل۴-۱۴). در واقع ریزجانداران از مواد هیدروکربنی به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده کرده و آنها را به آب و

دی اکسید کربن تبدیل می‌نماید و باعث افزایش تجزیه می‌شوند (اسپینوزا و دندوون، ۲۰۰۳). تیمار شبدر+قارچ افزایش تجزیه ۳۱/۸۸ درصدی ترکیبات (بنزو(a) آنتراسن و کرایسن) را نسبت به شبدر و شاهد داشت. همچنین در تیمار شبدر نسبت به شاهد هیچ گونه تجزیه‌ای مشاهده نشد. اما تیمار پنیرک نسبت به شاهد افزایش ۱۶/۹۸ درصدی تجزیه ترکیبات (بنزو(a) آنتراسن و کرایسن) را داشت.

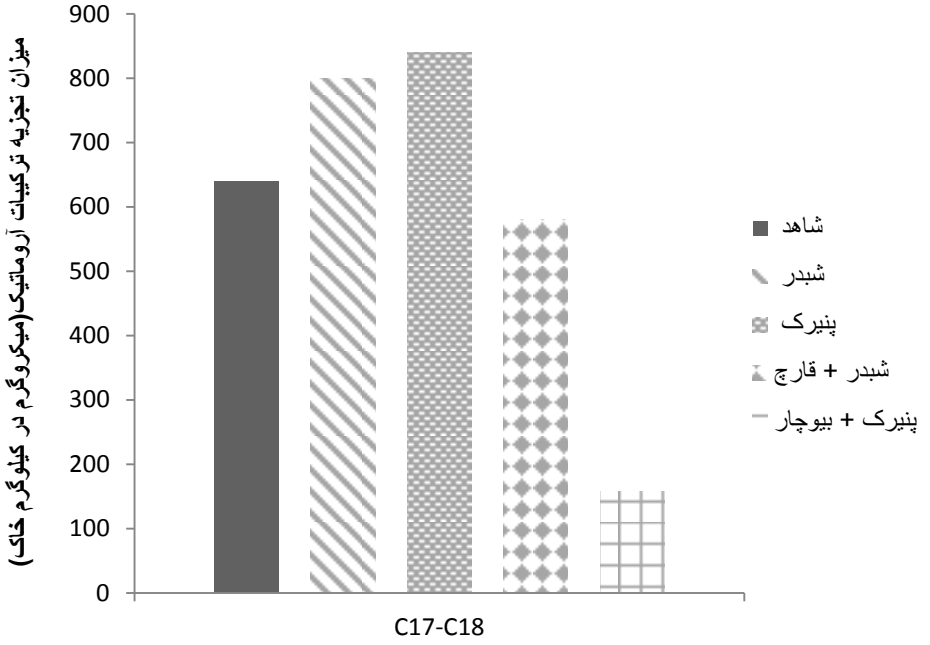
از آنجا که کمبود عناصر غذایی در خاک بر اثر هیدروکربن‌های نفتی بوجود می‌آید. و وجود هیدروکربن‌های نفتی باعث کاهش تجزیه ترکیبات آروماتیک می‌شوند، همچنین کمبود عناصر غذایی باعث کاهش توانایی گیاهان در تجزیه ترکیبات می‌شود، بنابراین می‌توان با اضافه کردن کود یا گیاهانی به خاک مثل شبدر که باعث تقویت خاک می‌شوند این کمبود را جبران کرد (اسوندینگر، ۱۹۶۸).



شکل ۴-۱۴- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (بنزو (a) آنتراسن، کرایسن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد.

بررسی آلکانهای C۱۷-C۱۸ (فلورانتن و پایرن) نشان داد بیشترین میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک به ترتیب مربوط به پنیرک+بیوچار و شبدر+قارچ بود. تیمار شبدر و پنیرک نسبت به نمونه

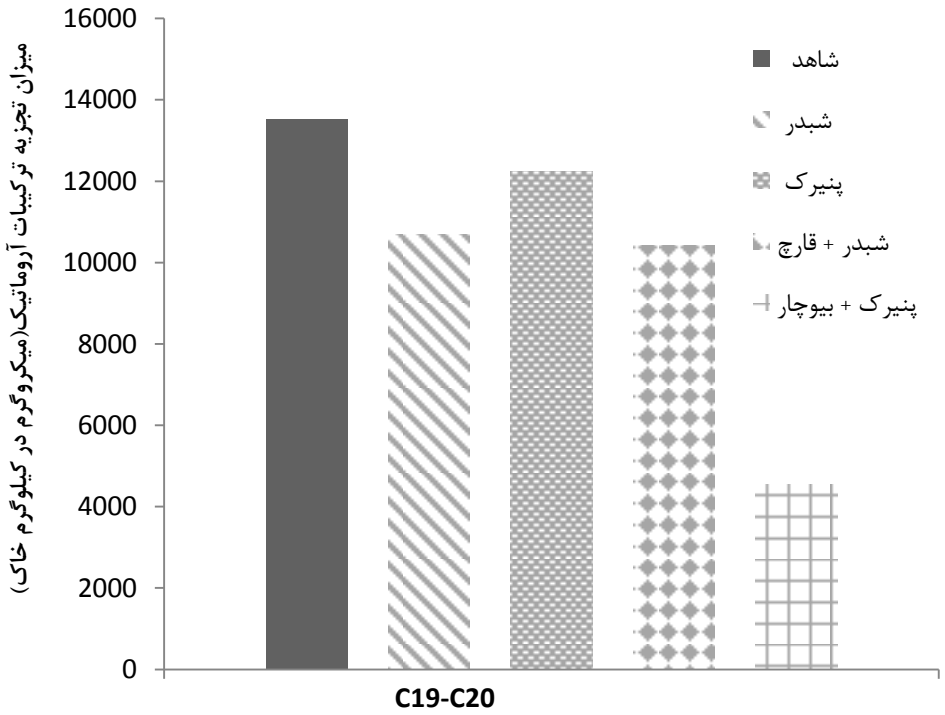
شاهد بدون گیاه کاهش تجزیه را نشان دادند. تیمار پنیرک+بیوچار نسبت به شاهد و پنیرک به ترتیب افزایش تجزیه ۱۲۴/۵۳ و ۸۱/۳ درصدی ترکیبات (فلورانتن و پایرن) را نشان دادند. تیمار شبدر+قارچ نسبت به شاهد و شبدر به ترتیب افزایش ۹/۳۷ و ۲۷/۵ درصدی تجزیه ترکیبات (فلورانتن و پایرن) را داشت. همچنین تیمار شاهد نسبت به پنیرک و شبدر افزایش ۲۳/۸ و ۲۰ درصدی تجزیه ترکیبات (فلورانتن و پایرن) را داشت (شکل ۴-۱۵). یکی از دلایل احتمالی این موضوع این است که میکرو-ارگانیسم‌های تجزیه کننده ترکیبات نفتی عمدتاً از ترشحات ریشه استفاده کرده و کمتر مواد نفتی را بعنوان منبع کربن و انرژی مورد استفاده قرار داده‌اند، در حالیکه در خاک بدون‌گیاه استفاده از آلاینده‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها بیشتر بوده و لذا تجزیه ترکیبات آلاینده (فلورانتن و پایرن) بیشتر صورت گرفته است. شواب و بانکز (۱۹۹۴) افزایش سرعت تجزیه ی پایرن را در خاک کشت شده (تال فسکیو، سودان گراس، سویچ گراس، و یونجه) در مقایسه با خاک کشت نشده گزارش کردند. آن‌ها ذکر کردند که میکروارگانیسم‌های سازگار شده برای افزایش سرعت تجزیه، که آن‌ها در خاک‌های کشت شده مشاهده کردند ضروری نیستند. پژوهشگران در آزمایشی تأثیر بیوچار را بر رشد گیاه گندم و توانایی آن در جذب PAHs مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد بیوچار در افزایش میزان جذب PAHs مؤثر بوده است (برنان و همکاران، ۲۰۱۴).



شکل ۴-۱۵- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (فلورانتن و پایرن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد.

بررسی آلکانهای C۱۹-C۲۰ (فلورن، فنانترن و آنتراسن) نشان داد بین هر پنج نمونه خاک اختلاف مشاهده شد. در تیمار شاهد کمترین میزان تجزیه و تیمار پنیرک+بیوچار بیشترین میزان تجزیه ترکیبات را نشان داد پس از آن به ترتیب نمونه شبدر+ قارچ، شبدر شاهد و پنیرک شاهد بیشترین میزان تجزیه را نسبت به شاهد بدون‌گیاه نشان دادند (شکل ۴-۱۶). به نظر می‌رسد افزایش تجزیه زیستی ترکیبات این گروه در نتیجه ریزجانداران حاضر در منطقه فرار ریشه می‌باشد. در تیمار پنیرک+بیوچار نسبت به تیمار شاهد و پنیرک به ترتیب افزایش تجزیه ۶۶/۳۴ و ۶۲/۷۹ درصدی تجزیه ترکیبات (فلورن، فنانترن و آنتراسن) مشاهده شد. همچنین تیمار شبدر+قارچ نسبت به شاهد و شبدر به ترتیب افزایش تجزیه ۲۲/۸۵ و ۲/۵۲ درصدی ترکیبات (فلورن،فنانترن و آنتراسن) مشاهده شد، از طرفی تیمار پنیرک و شبدر به ترتیب افزایش تجزیه ۹/۵۴ و ۲۰/۸۵ درصدی را نسبت به شاهد داشتند (شکل ۴-۱۶). کمک اصلی سیستم‌های کشت شده با گیاه برای زیست‌پالایی فنانترن می‌تواند از طریق دامنه‌ی متابولیک گسترش یافته‌ی جوامع باکتریایی رایزوسفر باشد. رشد ریشه‌های گیاه و

جوامع میکروبی همراه آن ها تجزیه زیستی آلاینده‌های نفت خام را افزایش می‌دهند (توما و همکاران، ۲۰۰۳ba). سانگ و همکاران (۲۰۰۸) نیز در مطالعه‌ی خود بر پایل‌های زیستی بیان کردند که کاربرد مواد اصلاح کننده‌ی آلی در خاک آلوده، مدت زمان لازم جهت حذف آلاینده را به مقدار قابل توجهی کاهش می‌دهد. نیکولز و همکاران (۱۹۹۷) همچنین تجزیه چندین ماده شیمیایی آلی شامل فنانترن را در رایزوسفر یونجه و چمن آبی آلپاین گزارش کردند، و تحریک پتانسیل زیست‌پالایی در اطراف ریشه‌های گیاه را پیشنهاد کردند. تجزیه زیستی فنانترن در خاک رایزوسفر گیاه جو دوسر باریک (Avena barbata) در مقایسه با خاک کشت نشده‌ی شاهد سریع‌تر بود و با افزایش تعداد تجزیه کننده‌ها در خاک رایزوسفر همبستگی داشت (مایا و فایر استون، ۲۰۰۰).



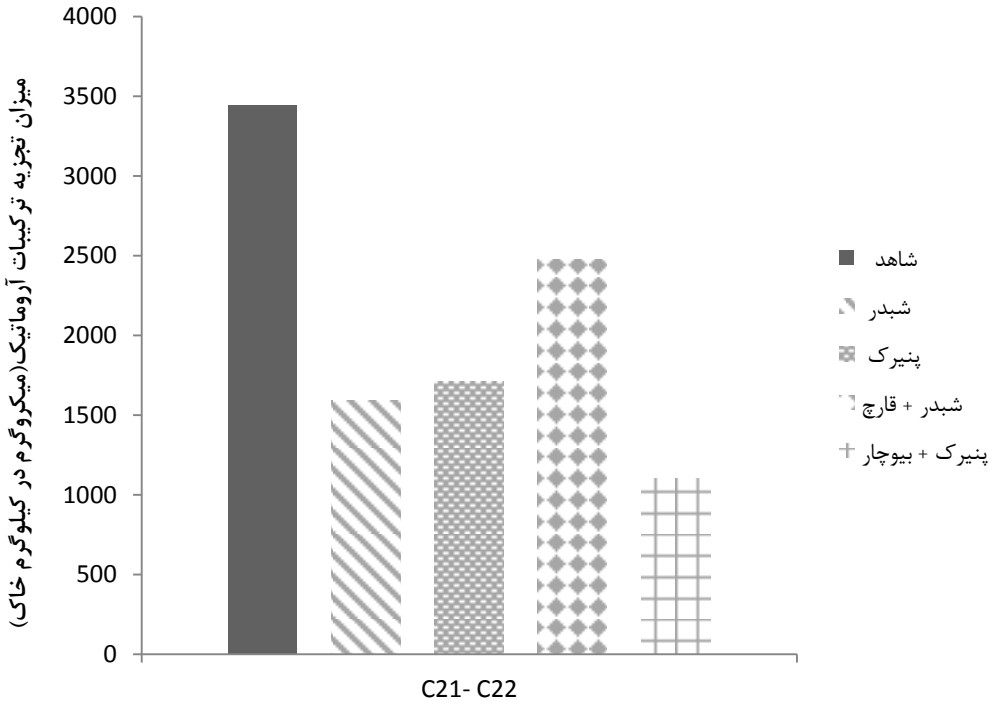
شکل ۴-۱۶- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (فلورن، فنانترن و آنتراسن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد.

بررسی آلکانهای C۲۱-C۲۲ (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) نشان داد بین هر پنج تیمار اختلاف مشاهده شد. در شاهد کمترین میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک مشاهده شد گیاه پنیرک + بیوچار بیشترین میزان تجزیه را نشان داد پس از آن به ترتیب شبدر، پنیرک و شبدر+ قارچ بیشترین

میزان تجزیه را نسبت به شاهد نشان دادند. در تیمار پنیرک+بیوچار نسبت به تیمار شاهد و پنیرک به ترتیب افزایش تجزیه ۶۸/۰۲ و ۳۵/۶۷ درصدی تجزیه ترکیبات (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) مشاهده شد. تیمار شبدر+قارچ نسبت به شاهد و شبدر به ترتیب افزایش تجزیه ۲۷/۹ و ۳۵/۸۸ درصدی تجزیه ترکیبات آروماتیک (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) دیده شد، از طرفی تیمار شبدر و پنیرک در مقایسه با شاهد به ترتیب افزایش ۵۳/۷۷ و ۵۰/۲۹ درصدی تجزیه ترکیبات (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) را داشتند. در این گروه از ترکیبات تیمار شبدر+قارچ نسبت به شبدر و پنیرک کاهش تجزیه را نشان داد (شکل ۴-۱۷). باتوجه به وزن خشک بدست آمده و مشاهده ریشه‌های شبدر این گیاه دارای ریشه های ضعیف‌تری نسبت به پنیرک بوده که به نظر می‌رسد وجود ترکیباتی مثل آسفالتن در خاک‌های آلوده به نفت موجب به وجود آمدن نوعی نیروی مکانیکی قوی در خاک می‌گردد که طویل شدن ریشه گیاهان را کند می‌کند و از آنجا که هیدروکربن‌های نفتی نیز ممکن است دسترسی ریزجانداران را به مواد غذایی به وسیله کاهش حلالیت آن‌ها در آب کاهش دهند در این تیمار چنین نتیجه‌ای بدست آمده است (اسوندینگر، ۱۹۶۸)، بنگوش (۲۰۰۳). یکی دیگر از دلایلی احتمالی می‌تواند این باشد که در این ترکیب میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده ترکیبات نفتی عمدتاً از ترشحات ریشه استفاده کرده و کمتر مواد نفتی را بعنوان منبع کربن و انرژی مورد استفاده قرار داده‌اند، در حالیکه در نمونه شاهد پنیرک و شبدر استفاده از آلاینده‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها بیشتر بوده و لذا تجزیه ترکیبات آلاینده (نفتالن، آسنفتیلن، آسنفتن) بیشتر صورت گرفته است.

با توجه به این که در تمامی شکل‌های (۴-۱۲- ۴-۱۷) تیمار بیوچار بیشترین مقدار تجزیه ترکیبات را دارا بوده می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاربرد بیوچار باعث افزایش تجزیه‌ی هیدروکربن-ها شده است زیرا در تیمار کنترل که هیچ گونه کودی دریافت نکرده، PAH افزایش یافته است. زیاد شدن PAH در تیمار کنترل را می توان به دلیل وجود شرایط بی‌هوازی دانست. درنتیجه، با کمبود اکسیژن، تجزیه بی‌هوازی منجر به تشکیل مواد آلی هیدروکربنی مانند متان و دی‌اکسید کربن می-

شود که متان خود یک هیدروکربن است و مقدار PAH را افزایش می‌دهد. که با نتایج (شکوهیان و مرادی، ۱۳۹۳) هم‌خوانی دارد.



شکل ۴-۱۷- مقایسه غلظت آلکانهای ترکیبات آروماتیک (میکروگرم در کیلوگرم خاک) شامل (نفتالن، آسنفتیلن و آسنفتن) در نمونه های تیمار شده با پنیرک+بیوچار، شبدر+قارچ، پنیرک، شبدر و شاهد.

شکل های ۴-۱۷-۴-۱۲ از روی کروماتوگرافی های شکل ۴-۱۱-۴-۷ بدست آمده است.

در این پژوهش گیاه شبدر به همراه اصلاح کننده قارچ باعث کاهش ۱۰/۸۶ درصدی و گیاه پنیرک به همراه اصلاح کننده بیوچار باعث کاهش ۸۶/۰۶ درصدی پایرن شدند. همچنین گیاه شبدر به همراه اصلاح کننده قارچ باعث کاهش ۲۲/۷۳ درصدی و گیاه پنیرک به همراه بیوچار باعث کاهش ۶۷/۵ درصدی فنانترن شدند. که با نتایج ژیو و همکاران (۲۰۰۶) هم‌خوانی دارد. ژیو و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعات خود به نقش مؤثر حضور پوشش گیاهی ذرت و رای گرس در کاهش ۹۸ درصدی غلظت فنانترن و ۹۵ درصدی در غلظت پایرن طی یک دوره ی ۶۰ روزه اشاره کردند.

نتایج بدست آمده در این پژوهش مبنی بر میزان تجزیه ترکیبات آروماتیک با با گزارش‌های دیگر محققین که در ادامه آورده شده است هم‌خوانی دارد. سید علی‌خانی و همکارانش (۱۳۸۹).

مسیر غالب برای حذف PAHs، زیست پالایی است که بر توانایی تجزیه‌ی جوامع میکروبی تکیه می‌کند، و کارایی زیست‌پالایی می تواند توسط تلقیح میکروارگانیسم های فعال و سازگار تجزیه کننده‌ی PAHs افزایش یابد (ونگر- دابلر، ۲۰۰۳).

بالاکاندار و همکاران (۲۰۱۱) از باکتری‌های استرپتومایسس جدا شده از خاک آلوده در چنای هند برای تجزیه هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای استفاده کردند. بازده تجزیه توسط GC- FID آزمایش شد و نشان داد که باکتری‌های جدا شده می‌توانند ۹۲/۲۸٪ روغن دیزل و ۹۹/۱۴٪ نفتالین و ۱۷/۵٪ فنانترن را در هفت روز در دمای ۳۰ درجه تجزیه کنند (سرکار و همکاران ۲۰۰۵).

توانایی گیاهان برای بالا بردن تجزیه‌ی میکروبی آلاینده‌ها در خاک رایزوسفر، مکانیسم اصلی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به PAHs است. در خاک اصلاح شده با مخلوط ۸ PAHs از ۳ تا ۵ حلقه‌ای، تجزیه‌ی تمام PAHsها در خاک رایزوسفر رای‌گراس از خاک غیررایزوسفری بیشتر بود (بینت و همکاران، ۲۰۰۰). توما و همکاران (آ و ب ۲۰۰۳) نشان دادند که رشد ریشه‌های گیاه و جوامع میکروبی همراه آن‌ها تجزیه‌ی زیستی آلاینده‌های نفت‌خام را افزایش می‌دهند.

موراتووا و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعات قبلی پاک‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن هم گزارش کردند که اثرات گیاهان روی میزان تجزیه کننده‌های PAH در رایزوسفر یونجه هفت برابر از خاک آلوده‌ی بدون گیاه بیشتر بود، اما در رایزوسفر نی چهار برابر کمتر بود.

رای‌گراس در مقایسه با خاک بدون‌گیاه مقدار بیشتری از هیدروکربن‌های مخلوط (n-آلکان-ها، هگزادکان، فنانترن، آنتراسن، فلورانتن، پایرن و پریستان) را در خاک کاهش می‌دهند. بطوریکه پس از یک دوره‌ی ۲۲ هفته ای، غلظت هیدروکربن قابل استخراج از ۴۳۳۰ mg /kg به کمتر از ۱۲۰ mg /kg در خاک های گیاه دار کاهش یافت (۹۷ درصد) در حالی که در خاک‌های بدون‌گیاه فقط ۷۹۰ mg /kg (۸۲ درصد) کاهش صورت گرفت (گانتر و همکاران، ۱۹۹۶).

مورال و همکاران (۱۹۹۹) افزایش تجزیه زیستی فنانترین جذب شده در نتیجه ریزجانداران حاضر در منطقه فرار ریشه را مشاهده کردند.

گیاه‌پالایی موفقیت آمیز آلاینده‌های آلی در گستره‌ی وسیعی از ترکیبات مانند گازوئیل و دیگر هیدروکربن‌های مخلوط مانند هیدروکربن‌های آلیفاتیک، هیدروکربن‌های حلقوی، آفت‌کش‌ها و مواد آلی کلردار اثبات شده است (آپریل و سیمز ۱۹۹۰).

تجزیه‌ی بیشتر هیدروکربن‌های نفتی در حضور ذرت نسبت به شاهد بدون‌گیاه برای هر دو محیط خاک و کشت هیدروپونیک مشاهده گردید (چاینو و همکاران، ۱۹۹۷).

در آزمایشی رابطه گیاه‌پالایی ترکیب آلاینده پایرن در سه نوع خاک توسط گیاهان یونجه و چاودار با کاربرد مواد آلی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که کاربرد کمپوست، تجزیه پایرن را به طور معنی‌داری افزایش داد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۲). در آزمایشی که نقش بیوچار بر زیست فراهمی PAHs و PTEs مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد بیوچار زیست فراهمی PAHs را کاهش، ولی در کاهش زیست فراهمی فلزات سمی کمتر مؤثر بوده است (گومز و همکاران، ۲۰۱۲). در آزمایشی تأثیر کاربرد فضولات طیور در زیست‌پالایی خاک های آلوده به TPH و PAH مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد فضولات میزان غلظت TPH و PAH را کاهش داد (ایزن و همکاران، ۲۰۱۴).

پژوهشگران در آزمایشی، نقش کمپوست زباله شهری و گیاه فسکیو در حذف PAHs از خاک را مثبت ارزیابی کردند به طوری که در خاک اصلاح شده حاوی تیمار ۱۰ درصد کمپوست، کمترین مقدار PAHs گزارش شد (فنگ و همکاران، ۲۰۱۴).

پرادهان و همکاران (۱۹۹۹)، در طی آزمایشی نشان دادند که استفاده از یونجه و ارزن سبب کاهش ۵۷ درصدی غلظت هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک در طی شش ماه شد.

در شرایط طبیعی، تخریب هیدروکربن‌های نفتی مختلف توسط میکروارگانیسم های خاک در محدوده ۱۰-۵٪ بصورت طویل‌المدت امکان‌پذیر می‌باشد، لکن با توجه به منابع مختلف پژوهشی تجزیه حداقل بیش از ۳۰٪ در شرایط آزمایشگاهی پس از یک هفته شرایط انکوباسیون، پتانسیل مطلوبی در نظر گرفته می‌شود (رودریگو و همکاران، ۲۰۰۵).

ریزش نفت در خاک به علت وارد کردن مقادیر عظیم کربن آلی به خاک باعث بالا رفتن نسبت C/N می شود که برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم های خاک نامناسب می‌باشد. با تأمین مواد غذایی معدنی از طریق کوددهی می‌توان این نسبت را تعدیل کرد (کیم و همکاران، ۲۰۰۵). هوادهی فعال و افزایش مواد مغذی ازت و فسفر در قالب یک پروسه زیست‌پالایی اثر معنی‌داری بر تحرک و تنوع باکتری‌ها تجزیه کننده هیدروکربن در خاک‌های آلوده به نفت ایجاد می‌کند. در واقع زیست‌پالایی بر اساس هوادهی و افزایش مواد مغذی یک استراتژی مفید برای تسریع تجزیه آلودگی-های نفتی در محیط است (اسپینوزا و دندوون، ۲۰۰۳). والوارث و همکاران (۲۰۰۳) به این نتیجه رسیدند که تجزیه هیدروکربن‌های خاک را می‌توان به وسیله کاربرد مواد غذایی ضروری مانند نیتروزن و به مقدار کمتر فسفر افزایش داد.

آیوتامون و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه ای اثرات زیست‌پالایی خاک زراعی آلوده به نفت خام در نیجریه به این به این نتیجه دست یافتند که اعمال تیمار کود شیمیایی، تجزیه بیولوژیکی را در خاک‌های آلوده به نفت افزایش داده و ۹۵-۵۰ درصد کاهش در هیدروکربن آلاینده حاصل می‌شود.

احتمالاً قارچ‌های مایکوریزا قادر به استفاده از هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک بعنوان منبع کربن و انرژی بوده و با تولید بیوسورفاکتانت‌هایی، باعث تجزیه و تخریب ساختمان شیمیایی این ترکیبات گردیده و می‌توانند این مواد آلی را با درصدهای مختلفی، تجزیه کرده و تولید CO2 و H2O و مواد بی‌ضرر دیگر نمایند (ابد لطیفی، ۲۰۰۹).

فصل پنجم

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

۵-۱ نتایج:

- ✓ اصلاح کننده بیوچار و بیوچار+قارچ میکوریز از نظر وزن خشک اندام هوایی با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد داشت.
- ✓ اثر اصلاح کننده بر pH در سطح پنج درصد معنی‌دار بود.
- ✓ هر دوگیاه شبدر و پنیرک از نظر pH نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد.
- ✓ قارچ میکوریز نسبت به بیوچار از نظر تشکیل هیف تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد.
- ✓ اثر اصلی گیاه بر هدایت الکتریکی در سطح یک درصد معنی‌دار بود.
- ✓ هر سه اصلاح کننده بیوچار، قارچ میکوریز و بیوچار+قارچ میکوریز از نظر تجزیه ترکیبات آلی نفتی نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان دادند.
- ✓ هر دو گیاه شبدر و پنیرک از نظر تجزیه ترکیبات آلی نفتی نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد.
- ✓ گیاه شبدر همزیستی بیشتری نسبت به پنیرک با قارچ میکوریز داشت و تیمار بیوچار به تنهایی در تشکیل هیف اثر چندانی نداشت.
- ✓ گیاه پنیرک با تیمار بیوچار و تیمار ترکیبی بیوچار به همراه قارچ میکوریز کاهش خوبی در میزان آلودگی داشتند که تأثیر بیوچار بیشتر بود. همچنین گیاه شبدر با تیمارقارچ میکوریز کاهش خوبی در میزان آلودگی داشت که احتمالاً به دلیل همزیستی خوب این گیاه با قارچ میکوریز می باشد.
- ✓ هردو گیاه پنیرک+بیوچار و شبدر+قارچ از نظر تجزیه ترکیبات آروماتیک نسبت به شاهد افزایش تجزیه را نشان دادند.

۵-۲ پیشنهادها:

- استفاده از گیاهان بومی هر منطقه جهت گیاه‌پالایی ترکیبات نفتی.
- استفاده از گیاهان شبدر و پنیرک در تجزیه ترکیبات آروماتیک.
- استفاده از بیوچار برگ بلوط با دیگر گیاهان بومی در گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده.
- استفاده از قارچ مایکورایزا با گیاهانی که توانایی همزیستی با این قارچ را دارند جهت گیاه-پالایی.
- بررسی توانایی گیاهان بومی هر منطقه جهت حذف عناصر سنگین موجود در خاک‌های آلوده نفتی.
- بررسی توانایی بیوچار و قارچ مایکورایزا به همراه گیاهان مختلف در حذف عناصر سنگین.

پیوست ۱- جداول

آرایش گلدان‌ها

نمونه‌های شاهد بدون‌گیاه:

شاهد بدون‌گیاه ۳ تکرار (c_1 و c_2 و c_3)، شاهد بیوچار ۳ تکرار (b_1 و$b2$ و b_3)، شاهد بیوچار+میکوریز ۳ تکرار($b_۱+m_۱$ و $b_۲+m_۲$ و $b_۳+m_۳$).

گیاه شبدر:

شبدر شاهد ۳ تکرار (Cc۱، Cc۲ و Cc۳)، شبدر+بیوچار ۳ تکرار (Cb۱، Cb۲ و Cb۳)، شبدر+میکوریز ۳ تکرار (Cm۱، Cm۲ و Cm۳) شبدر + بیوچار+ میکوریز (Cb۱m۱ و Cb۲m۲ و Cb۳m۳).

گیاه پنیرک:

پنیرک شاهد ۳ تکرار (Mc۱ و Mc۲ و Mc۳)، پنیرک+بیوچار ۳ تکرار (Mb۱ و Mb۲ و Mb۳)، پنیرک+میکوریز (Mm۱ و Mm۲ و Mm۳)، پنیرک + بیوچار + میکوریز (Mb۱m۱ و Mb۲m۲ و Mb۳m۳).

$c_۱$	$c_۲$	$c_۳$	$b_۱$	$b_۲$	$b_۳$	$b_۱+m_۱$	$b_۲+m_۲$	$b_۳+m_۳$
$Mc_۱$	$Mc_۲$	$Mc_۳$	$Mb_۱$	$Mb_۲$	$Mb_۳$	$Mm_۱$	$mm_۲$	$Mm_۳$
$Mb_۱m_۱$	$Mb_۲m_۲$	$Mb_۳m_۳$	$Cc_۱$	$Cc_۲$	$Cc_۳$	$Cb_۱$	$Cb_۲$	$Cb_۳$
			$Cm_۱$	$Cm_۲$	$Cm_۳$	$Cb_۱m_۱$	$Cb_۲m_۲$	$Cb_۳m_۳$

فهرست منابع (فارسی و لاتین):

آقابابائی ف. و ف. رئیسی و ح. نادیان. ۱۳۸۸. بررسی امکان برقراری رابطه همزیستی اندومیکوریزایی در توده های بذری چند ژنوتیپ تجاری بادام. **مجله علوم و فنون باغبانی ایران ۱۰: ۱۲۷-۱۴۰.**

آقابابائی ف. و ف. رئیسی. ۱۳۸۸. اثر همزیستی میکوریزایی بر جذب عناصر غذایی توسط نهال های برخی ژنوتیپ های تجاری گیاه بادام. **یازدهمین کنگره غلوم خاک ایران، گرگان.**

ابراهیمی س.، شایگان ج.، ملکوتی م.ج. واکبری ع.، (۱۳۹۰)، "ازیابی زیست محیطی و سنجش برخی فاکتورهای مهم آلودگی نفتی در اراضی محدوده ی پالایشگاه گاز سرخون بندرعباس" **مجله علمی پژوهشی محیط شناسی، دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران، تهران، شماره ۵۷، ص ۹-۱۸.**

ابراهیمی م.، فلاح ع.، ساریخانی م.، (۱۳۹۲)، "جداسازی و شناسایی برخی از باکتری های تجزیه کننده مواد نفتی از خاک های آلوده به مواد نفتی و بررسی توان رشد آن ها در حضور گازوئیل" **نشریه دانش آب و خاک، جلد۲۳، شماره ۱، صفحه های ۱۰۹ تا ۱۲۱.**

اسماعیلی ساری،ع، آلاینده ها، بهداشت و استاندارد در محیط زیست، **نشر نقش مهر، تهران، ۱۳۸۱.**

افیونی م. و خوشگفتارمنش ح.، (۱۳۸۵)، "گزارش عملکرد قطب آلودگی خاک و آب دانشگاه صنعتی اصفهان" **دانشگاه صنعتی اصفهان، ص ۲-۱۱.**

اکبرپور سراسکانرود ف.، صدری ف. و گل علیزاده د.، (۱۳۹۱)، "گیاه پالایی خاک های آلوده به برخی فلزات سنگین به وسیله چند گیاه بومی منطقه حفاظت شده ارسباران" **حفاظت منابع آب و خاک، ۱ (۴): ۵۳-۶۶.**

ایرانمنش ع.، امینی ج.، انصاری م. و فائزی قاسمی م.، (۱۳۸۸)، "تهویه زیستی خاک به منظور حذف آلاینده گازوئیل توسط میکروارگانیسم ها" **دوازدهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ص ۲۷۲۴-۲۷۳۱.**

بسالت پور ا.، (۱۳۸۶) ، "زیست پالایی خاکهای آلوده به هیدروکربنهای نفتی به روش پایان نامه کارشناسی ارشد Phytostimulation"**خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.**

بشارتی، ح. پالایش میکروبی خاک های آلوده به مواد نفتی و بررسی نقش رایزوسفر در کارایی ریز جانداران. **نشریه پژوهش های خاک (علوم خاک و آب) / الف / جلد ۲۸/ شماره ۱۳۹۳/۳ /۵۷۵.**

پرتوی نیا ع. و نعیم پور ف.، (۱۳۸۷) "زیست سالم سازی خاک های آلوده به هیدروکربن نفتی نرمال – هگزادکان در فاز دوغابی و بررسی پارامترهای مؤثر" **پژوهش نفت، سال هجدهم، شماره۵۸.**

تقی زاده م. و کافی م.، (۱۳۸۷)، "معرفی تکنولوژی گیاه پالایی و گیاه پالاینده های فضای سبز" **مجموعه مقالات سومین همایش ملی فضای سبز و منظر شهری، ویژه نامه ضمیمه ماهنامه، شماره۲۷.**

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 سید موحدی نائینی ع.، (۱۳۹۲)، "زیست پالایی خاک های آلوده به نفت کوره تحت تأثیر همزمان کمپوست زباله شهری و برخی کودهای شیمیایی" **نشریه حفاظت منابع آب و خاک، سال دوم، شماره سوم، بهار ۱۳۹۲.**

جهانتاب، ا.، م. جعفری، ب. متشرع زاده، ع. طویلی و ن. ضرغام. ۱۳۹۵. ارزیابی پتانسیل گیاه پالایی گونه های گیاهی مرتعی در خاکهای آلوده به ترکیبات نفتی با تأکید بر فلز سنگین نیکل. **فصلنامه علوم محیطی. ۱۴(۳): ۱۲۲-۱۰۷.**

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 دانشگاه تهران، ۲و۳ خرداد۱۳۹۶.**

خسرویی نوده م.، عباسپور ع. و ابراهیمی س. (۱۳۹۱)، " برسی تغییرات تجزیه آلودگی نفتی خاک توسط سیستم های زیست پالایی" **پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه شاهرود، ص ۱۶.**

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

دبیری م.،(۱۳۸۹)، "آلودگی محیط زیست" انتشارات اتحاد، **چاپ هفتم.**

دریابیگی زند ع.، نبی بیدهندی غ.، مهردادی ن. و شیردم ر.، (۱۳۹۰)، "توانایی گونه های گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک و تأثیر آلودگی نفتی بر رشد این گونه های گیاهی" **علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره دوازدهم، شماره چهار، زمستان ۸۹.**

سادات، ع-، ثواقبی، غ.، رجالی، ف.، فرحبخش، م.، خاوازی، ک.، و شیردمی، م. (۱۳۸۹) تأثیر چند نوع قارچ میکوریز آربوسکولار باکتری محرک رشد گیاه بر شاخص های رشد و عملکرد دو رقم گندم در یک خاک شور، **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۴: ۶۲-۵۳.**

سروی مغانلو و.، چرم م.، فلاح م. و معتمدی ح.، (۱۳۹۱) "بررسی نقش قارچ میکوریزا و بااکتری های تجزیه گر در افزایش گیاه پالایی ترکیبات نفتی در خاک های آلوده به نفت خام" **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۶، شماره ۴، مهر – آبان ۱۳۹۱، ص ۸۴۱-۸۳۲.**

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

سید علیخانی س.، شرفا م. و اصغر زاده ا.، (۱۳۸۸)، "کارایی تیمارهای باکتریایی تولید داخل در درمان بیولوژیک آلودگی هیدروکربنی خاک" **هفتمین همایش ملی انرژی ایران، تهران.**

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

شکوهیان م. و مرادی م.، (۱۳۹۲)، "اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به گازوئیل با استفاده از کود گاوی" **نشریه مهندسی عمرانی فردوسی ۱۱۸- ۱۰۵.**

شهریاری م ح.، ثواقبی فیروز آبادی غ ر.، مینایی تهرانی د. و پدیداران م.، (۱۳۸۵)، " تاثیر مخلوط دو گیاه بونجه و فسکیو در گیاه پالایی خاک آلوده به نفت سبک" **مجله علوم محیطی، شماره ۱۳، ص ۴۰-۳۳.**

صدروی م. و قرچه ن. (۱۳۹۲)، "نقش قارچ های همزیست ریشه در احیای زمین های آلوده به مواد سمی. **دانش بیماری شناسی گیاهی ۲(۲):۶۰-۴۵.**

طراوتی، حمید ۱۳۷۲، "وضعیت جهان"، لستربراون، نشر آروین، ص: **۵۱-۲۵، ۱۱۱-۸۱.**

علی آبادی فراهانی، ح. و س. ع. ولدآبادی. ۱۳۸۹. نقش قارچ میکوریز آربسکولار بر گیاه دارویی گشنیز در شرایط تنش خشکی. **مجله پژوهش های خاک، علوم خاک و آب. جلد۲۴، شماره یک، صفحات ۸۰-۶۹.**

علی نجفی، س. ماهنامه علمی – ترویجی اکتشافات و تولید نفت و گاز / شماره ۱۱۰/ **اسفند ماه ۱۳۹۲ – فروردین ماه ۱۳۹۳.**

عنایت زاده م.، (۱۳۸۵)، "حذف آلودگی های حاصل از نفت خام در محیط زیست و آب های آلوده به روش زیستی" **پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر.**

قویدل ا.، ناجی راد س. و علیخانی ح.، (۱۳۹۵)، "جداسازی و مطالعه باکتری های بومی خاک های آلوده جنوب پالایشگاه تهران جهت زیست پالایی آلودگی های نفتی" **نشریه دانش آب و خاک، جلد ۲۶، شماره ۳/۱، صفحه های ۱۷۵ تا ۱۸۵ سال ۱۳۹۵. ۹۱۲۴۷۳۸۳۲۵ نام و نام خانوادگی و لاتین ایمیل شماره ملی تلفنشماره حسابعنوان پایان نامه استاد راهنما و مشاور شماره دانشجویی**

کردانی م. و تکدستان ا.، (۱۳۹۴)، "حذف کل هیدروکربن های نفتی با استفاده از گیاه وتیور و تغییرات جمعیت میکروبی در خاک های آلوده به نفت در منطقه اهواز" **مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره بیست و پنجم، شماره۱۳۱، آذر سال ۱۳۹۴.**

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 محیط‌زیست 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.**

ملازاده، مرتضی (۱۳۸۹) "گیاهان علوفه ای" (انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی) مرجع جامع گیاهان زراعی: جلد سوم، **انتشارات کرج.**

مللی ا.ر.، حاج عباسی م.ع.، افیونی م. و خوش گفتار منش ا.ح.، (۱۳۹۰)، "گیاه پالایی هیدروکربن های نفتی لجن فاضلاب پالایشگاه اصفهان" **مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، سال پانزدهم، شماره پنجاه و ششم، تابستان ۱۳۹۰.**

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.**

Abd El-Latif Hesham., Saad A. Alamri., Sardar Khan., Motamed E. Mahmoud and Hashem M. Mahmoud., 2009. Isolation and molecular genetic characterization of a yeast strain able to degrade petroleum polycyclic aromatic hydrocarbons. **African Journal of Biotechnology 8(10), 2218-2223.**

Adam, G. and H. Duncan. 2002. Influence of diesel fuel on seed germination. J. **Environ. Pollut. 120: 363-370.**

Adesodun, J.K. and Mbagwu, J.S.C., "Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings", **Bioresource Technology, 99, pp. 5659–5665, (2008).**

Al-Mansoory 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.**

AL-Zalzaleh H. and Shabbir G. (2004) "Effect of bioremediated soil on growth of different plant species" Kuwait J. Sci. Eng. **31: 107-118.**

Anigboro, A. A., & Tonukari, N. J. (2008). Effect of crude oil on invertase and amylase activities in cassava leaf extract and germinating cowpea seedlings. **Asian J. Biol. Sci, 1(1), 56-60.**

April, W., and Sims, R.C. 1990. Evaluation of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. J. Chemosphere. **20: 253-265.**

Arancon, N., C. A. Edwards, P. Bierman, C. Welch and J. D. Metzger. (2004) Influences of vermicomposts on field strawberries: 1. **Effects on growth and yields. Bioresource Technol. 93: 145-153.**

Asghari H. R., Chittleborough D. J., Smith F. A. and Smith S. E. (2005) Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis on phosphorus leaching through soil cores. **Plant and Soil 275:181-193.**

Asghari, H. R. (2008) Vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizae improve salinity tolerance in preinoculation subterranean clover (Trifolium subterraneum) seedlings. **International Journal of Plant Production 2: 243-256.**

Ayotamuno M., J., Kogbara R.B., Ogaji S.O.T., and Probert S.D. 2006. Bioremediation of a Crude – Oil Polluted Agricultural – Soil at Port Harcort, Nigeria. Applied Energy, **85:1249-1257.**

Baker, J. M. (1970). The effects of oils on plants. **Environmental Pollution (1970), 1(1), 27-44.**

Banks M.K., Govindaraju R.S., Schwab A.P. and Kulakow P. (2000) Field demonstration. Pp. 3-85. In: Fiorenza S., Oubre C.L. and Ward C.H. (Eds.), **"Phytoremediation of Hydrocarbon Contaminated Soil" Lewis Publishers. Boca Raton. FL.**

Banks M.K., Schwab A.P., Liu B., Kulakow p., Smit J.S. and Kim R. (2003) "The effect of plants on the degradation and toxicity of petroleum contaminants in soil" A field assessment. Adv. Biochem. Eng. Biotech. **78: 75-96.**

Balachandran,C, Duraipandiyan, V,(2013)., Petroleum and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) degradation and naphthalene metabolism in streptomayces. Research on chemical Intermediates. **39, pp.83-90.**

Bastos AC, Prodana M, Abrantes N, Keizer JJ, Soares AMVM, Loureiro S (2014) Potential risk of biochar-amended soil to aquatic systems: an evaluation based on aquatic bioassays. Ecotoxicology **23(9): 1784–1793.**

Basumatary B, saikia R, Bordoloi S, Chandra Das H, Prasad Sarma H. Assessment of potential plant species for phytoremediation of hydrocarbon-contaminated areas of upper Assam, India. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology 2012; 87(9): 1329-1334.**

Bengough, A.G., 2003." Root growth andfunction in relation to soil structure,composition, and strength In: Root Ecology". **SpringerHeidelberg Chapter, pp, 6.**

Binet, P., portal, J.M. 2000. "Dissipation of 3-6 ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass". **Soil Biology and Biochemistry, 32, pp, 2077.**

Biswas S.S.K., Chaudhari S. and Mukhreji S. (2005)" Microbial uptake f diesel oil sorbed on soil and spill clean-up sorbents Journal of chemical technology and biotechnology **80:587-593.**

Bolan N (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants Plant and soil **134:189-207.**

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

Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. Agron**. J. 54-464-465.**

Brennan, A., Moreno, E., Jose, J.N., Alburquerque, A., Knapp, C.W. and Switzer, C. (2014). Effect of biochar and activated carbon amendment on maize growth and the uptake and measured availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and potentially toxic elements (PTEs). **Environmental Pollution, 193, 79-87.**

Chaineau, C.H., Morel, J.L., and Oudot, J. 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. J. Eviron. Qual. **26: 1478-1483.**

Chupakhina, G. N., & Maslennikov, P. V. (2004). Plant adaptation to oil stress. **Russian journal of ecology, 35(5), 290-295.**

Cuningham S,D., Anderson T.A., Schwab P.A. and Hsu, F.C. (1996) "Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants" **Avd. Agro. 56: 44-114**.

Daryabeygi zand A, Nabi bidhendi GR, Mehrdadi N, Shirdem R. The ability of different plant species in removing composition oil from soil and effects of oil pollution on the growth of this species**. Journal of Environmental Science and Technology 2010; 12(4); 41-57 (Persian).**

Das K and Mukherjee AK, 2006. 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.**

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.**

Ding K.Q.,Luo Y.M., Liu S.L., Wu L.H., Xin W.Q., Li Z.G. and Tao S. (2004) "Dynamics in benzo[a]pyrene concentrations in soil as influenced by ryegrss plants" **Act. Pedologi. Sin, 348-353.**

Enteshari, Sh., Hajbagheri, S. and Razavizadeh, R. (2012) Role of mycorrhizal fungi and salicylic acid in salinity olerance of Ocimum basilicum resistance to salinity. African Journal of Biotechnology **11: 2223-2235.**

Escalante-Espinosa E, Gallegos-Martınez ME, Favela-Torres E, Gutierrez-Rojas M. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by Cyperus laxus Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system. **Chemosphere 2005; 59(3): 405-413.**

Espinoza Y.R., and Dendooven L.(2003) Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maze. **Chemosphere, 54:379- 386.**

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

Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B. (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. **Annals of Botany 104: 1263-1280.**

Ezenne, G.I., Nwoke, O.A., Obalum, S.E. and Ugwuishiwu, BO. (2014). Use of poultry droppings for remediation of crude-oil-polluted soils: Effects of application rate on total and poly-aromatic hydrocarbon concentrations." **International Biodeterioration & Biodegradation 92, 57-65.**

Feng, G., F.S. Zhang, X.L. Li, C.Y. Tian and C. Tang. (2002) Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. **Mycorrhiza 12:185–190.**

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

Ferradji F. 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.**

Ferro, A.M., Rock, S.A., Kennedy, J., Herrick, J.J., and Turner, D.L. 1999. Phytoremediation of soils contaminated with wood preservatives: greenhouse and field evaluations**. Int. J. Phytoremediation. 3: 289-306.**

Gang, Q., Dan, G., and Mei-Ying, F. (2013). Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar, **Int. Biodeterior. Biodegrad., 85, 150–155.**

Gennaro, P.Di., Franzetti, A., Bestetti, G., Lasagni, M., Pitea, D., Collinia, E., "Slurry phase bioremediation of PAHs in industrial landfill samples at laboratory scale", **Waste Management, Article in press, 2007.**

Gerhardt, K. E., Huang, X. D., Glick, B. R., & Greenberg, B. M. (2009). Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. **Plant Science, 176(1), 20-30.**

Ghazi, N. Al-Karaki. (1998) Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. Mycorrhiza **8:41–45.**

Gomez-Eyles, J. L., Sizmur, T., Collins, C. D., & Hodson, M. E. (2012). Effects of biochar and the earthworm Eisenia fetida on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and potentially toxic elements. **Environmental Pollution, 159(2), 616-622.**

Gunther T., Dornberger W., Fritsche. (1996). "Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil", **Chemosphere, 33: 203-215.**

Harbhajan Singh. 2005. Mycoremediation. A John Wiley & Song, Inc., Publication.**PP:283-285.**

Harmsen, J. 1991. Possibilities and limitations of landfarming for cleaning contaminated soils. **PP. 255–272**. In: Olfenbuttel, R.F.H. (Ed.), On-site bioremediation Process for Xenobiotic and Hydrocarbons treatment.

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.**

Ho Y., Jackson M., Yang Y., Mueller J.G., and Pritchard P.H. 2000. Ization of uoranthene and pyrene-degrading bacteria isolated. PAH- contaminated soil and sediments and comparison of several sph- ingomona ssp, J. Ind. Microbial, **2:100-112.**

Huang, X. D, Y. E. Alawi, D. M. Penrose, B. R. Glick and B. M. Greenberg. 2004. A multi process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil. Environ. Pollut. **130: 465-476.**

Hutchinson, S. L., M. K. Banks and A. P. Schwab. 2001. Phytoremediation of Aged Petroleum Sludge: Effect of Inorganic Fertilizer. J. Environ. Qual. **30: 395–403.**

Janas M, Zawadzka A (2017) Wplyw skladowiska odpadow przemyslowychna srodowisko Ecological Engineering **18:64-73.**

Joo H.S., Shoda M. and Phae C.G. (2007) "Degradation of diesel oil in soil using a food waste composting process" **J. Biodegrad. 18:597-605.**

Kaimi E., Mukaidani T. and Tamaki M. (2007) "Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil" **Plant prod. Sci. 10(2):211-218.**

Kaimi E., Mukaidani T., Miyoshia S. and Tamaki M. (2006) "Ryegrass enhancement of biodegration in diesel-contaminated soil" **Environ. Exp. Bot. 55(1-2): 110-119.**

Khan, F.I., Husain, T., Hejazi, R., 2004. An owerview and analysis of site remediation technologie. Environmental Management **71, 95-122.**

Khan S., Hesham A.E., Qing G., Shuang L., and He J. 2009. Biodegradation of pyrene and catabolic genes in contaminated soils cultivated with **Lolium multiflorum L, Journal of Soils Sediments, 9:482-491.**

Kiarostami, Kh. Ghafari Rahbar, F. and Shirdom, R., (2013) Study of the function and alteration of plants root in the oil contaminated soils. Journal of Plant Research (Bilogy). **26(4), 500-509. (In Persian with English abstract).**

Kim MH and Hao OJ, 2005. Co-metabolic degradation of chlorophenols by Acinetobacter species. Water Res **33: 562-574.**

Kingston, H. M.; Walter, P. J.; Link, D. D. Validation Study and Unpublished Data, Duquesne University, Pittsburgh, **PA, 1995.**

Langbehn, A. and H. Steinhart. 1995. Biodegradation studies of hydrocarbons in soil by analyzing metabolites formed. Chemosphere **30: 855–867.**

Larson A.I. (1967) "Oil geology book. Friman" W.H

Lee, S. H., Lee, W. S., Lee, C. H., & Kim, J. G. (2008). Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. **Journal of Hazardous Materials, 153(1), 892-898.**

Lehmann, J., Czimnik, C., Laird, D. and Sohi, S. (2009). Stability of biochar in the soil. In: Biochar for Environmental Management (edsJ. Lehmann & S. Joseph), **pp. 183–205. EarthCam, London.**

Lenoir I, Fontaine J, Sahraoui AL-H (2016a) Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review Phytochemistry **123:4-15.**

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.**

Lenoir I, Lounes-Hadj Sahraoui A, Fontaine J (2016b) Arbuscular mycorrhizal fungal-assisted phytoremediation of soil contaminated with persistent organic pollutants: a review European **Journal of Soil Science 67:624-640.**

Liang, B., Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J.,Grossman, J., O'neill, B., Skjemstad, J., Thies, J., Luizao, F., Petersen, J. (2006). Black carbon increases cation exchange capacity in soils. **Soil Science Society of America Journal, 70, 1719-1730.**

Liangli J and Hungchen B, 2009. Surfactant mediated biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Materials 2: 76-94.**

Li, C.H., Ma, B.L. and Zhang, T.O. 2002. Soil bulk density effects on soil microbial population and enzyme activities during the growth of maize (Zea Mays) planted in large pots under field exposure. J. **Plant. Sci. 82: 147- 154.**

Liste H.H. and Felgentreu D.(2006) "Crop growth, culturable bacteria, and degradation of petrol hydrocarbons (PHCs) in a long-term contaminated field soil" **App. Soil. Ecology. 31: 43-52.**

Liste H.H. and Prutz I. (2006) "Plant performance, dioxigenase-expressing rhizospher bacteria, and biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soil "Chem. **62: 1411-1420.**

Lu M., Zhang Z., Sun S., Wei X., Wang Q., and Su Y. 2009. The use of goosegrass (*Eleusine indica*) to remediate soil contaminated with petroleum. Water, Air and Soil Pollution, **209:181-189.**

Maranho, LT., Dziedzic, M., Mu iz, GIB., Kuniyoshi, YS., Galvao, F.(2009). Effects of the pollution by petroleum on the tracheids along the stem of Podocarpus lambertii Klotzsch ex Endl., *Podocarpaceae, Braz. J. Biol*., 69(2), **pp263-269.**

Marin, J. A., T. Hernandez and C. Garcia. 2005. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity. Environ. Res. **98: 185–195.**

Mazhari, M. and Homaee, M. 2012. Annual halophyte chenopodium botrys can phytoextract cadmium from contaminated soils. Journal of Basic Applied Science Research, **2 (2): 1415.**

McGonigle, T. P., D. G. Evans,G. L. Fairchild and J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New phytol. **115: 495-501.**

Merkl, N., Karft R.S. and C. Infant. 2005. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum contaminated soils. Water, Air, Soil Pollut. **165: 195-209.**

Meudec, A., Poupart, N., Dussauze, J., & Deslandes, E. (2007). Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in Salicornia fragilis. *Science of the total environment*, ***381*(1), 146-156.**

Minai-Tehrani D., Herfatmanesh A., AzariDehkordi F and Minooi s-, 2006-'Effect ofsalinity on biodegradation of aliphatic fractionsof crude oil in soil'- pak.J.Biol.sci. ٩,**pp,1531-1525.**

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

Mohsenzade F., Naseri A., Mesdaghinia R., Nabizade D., Zafari A.,(2009) "Phytoremediation of petroleum-contaminated soils: pre-screening for suitable plants and rhizospheral fungi". **Toxicological and environmental chemistry.**

Moral, J.L. 1999. The role of plants in the remediation of contaminate soils;phytoremediation of soils. In Bioavailability of organic Xenobiotics in the environment, eds Baveye, Ph.,Block , J.-C., and Goncharuk V.V., **pp 429-450.**

Moslehi, T., Fazeian, M. and Sohrabi, A., (2015) Effects of municipal waste compost and EDTA on phytoremediation of cadmium from the soil. In Proceedings 1st International Conference on Environmental Engineering, January.

Moubasher H., Hegazy A., Mohamed N., Moustafa Y., Kabiel 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.

Muratova A.Y., Turkovskaya O.V. and Hubner T., Kusck P.(2003) "Studies of the efficacy of alfalfa and reed in the phytoremediation of hydrocarbon polluted soil" **Appl. Biochem. Microbiol. 39: 599-605.**

Myia R.K. and Firestone M.K. (2000) "Phenanthrene-degrader community dynamics in rhizosphere soil from a common annual grass" **J. Environ. Qual. 29: 584-592.**

Nedunuri, K.V., Govindaraju R.S., Banks M.K., Schwab A.P. and Z. Chen. 2000. Evaluation of phytoremediation for field scale degradation of total petroleum hydrocarbons. Environ. Engine. **126: 483-490.**

Nichols T.D., Wolf D.C., Rogers H.B., Beyrouty C.A.and Reynolds C.M. (1997) "Rhizosphere microbial populations in contaminated soil" **Water. Air. Soil. Pollut. 95: 165-178.**

O'Neill B, Grossman J, Tsai MT, Gomes JE, Lehmann J, Peterson J, Neves E,Thies JE (2009) Bacterial community composition in Brazilian anthrosols and adjacent soils characterized using culturing and molecular identification. **Microb Ecol 58:23-35.**

Ouyang W., Liu H., Murygina V. and Yongyong Y. (2005) "Comparison of bioauugmentation and composting for remediation of oily sludge": A field-scale study in china, process Biochem. **40: 3763-3768.**

Palmroth, M. R. T., J. Pichtel and J. A. Puhakka. 2002. Phytoremediation of subarctic soil contaminated with dieselfuel. Bioresource Technol. **84: 221-28.**

Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z., & Zhang, Z. (2009). Phytoremediation of petroleum contaminated soils by Mirabilis Jalapa L. in a greenhouse plot experiment. ***Journal of hazardous materials, 168*(2), 1490-1496.**

Peretiemo-Clarke, B. O., & Achuba, F. I. (2007). Phytochemical effect of petroleum on peanut (Arachis hypogea) seedlings. *Plant Pathol.* ***J, 6*(2), 179-182.**

Petter, F.A., Madari, B.E., Soler da Silva, M.A., Carneiro, M.A.C., Thaís de Melo Carvalho, M., Júnior, B.H.M. and Pacheco, L.P. (2012). Soil fertility and upland rice yield after biochar application in the Cerrado, Pesq. Agropec. **Bras. Brasília, 47, 699-706.**

Pradhan S.P., Conrad J.R., Paterek J.R., and Srivastava V.J., 1999. "Potential of Phytoremediation of treatment of PAhs in soil at MGP sites". **Journal of soil contamination, 7, pp, 467-480.**

Pulford, I.D. and C. Watson. 2003. Phytoremediation of heavy metal contaminated land by tree- a review. J. Environ. **Int. 29: 529-40**.

Reilly K.A., Banks M.K. and Schwab A.P. (1996) "Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere" **J. Environ. Qual. 25: 212-219.**

Rezaian, A. (2014). Effect of biochar and mycorrhiza on uptake, translocation and accumulation of cadmium in mint, MSc theses, Agriculture Faculty, Shahrod Technology University.

Rhoades J.(1996) "Electrical conductivity and total dissolved solids" **P.417-436**.In:Sparks D.L., Page A.L., Helmke P.A. and Loeppert R.H. "method of soil analysis" Poblished by: soil science society of American, Inc. American society of agronomy. Inc. Madison, Washington,USA.

Rodrigo J.S. Jacques.,Eder C. Santos.,Fatima M. Bento.,Maria C.R. Peralba.,Pedro A. Selbach.,Enilson L.S. Sa and Flavio A.O. Camargo.,2005. Anthracene biodegradation by *Pseudomonas sp*. Isolated from a petrochemical sludge land farming site. International Biodeterioration& Biodegradation **56, 143-150.**

Romero M.C., Cazau M.C., Giorgieri S., and Arambarri A.M. 1998. Phenanthrene degradation by microorganisms solated from a contaminated stream Environment Pollution. 101: 355–359.

Sang-Hwan, L. and Bang-Il Oh, J-G K., "Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity", Bioresource Technology, **99, pp. 2578–2587, (2008).**

Sarkar, D., M. Ferguson., R. Datta and S. Birnbaum, "Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation", Environmental Pollution, **136, pp. 187-195, (2005).**

Schaefer M., Petersen S.O. and Filser J. (2005)" Effects of Lumbricus terrestris, Allolobophora chlorotic and Eiesenia 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 soill" Journal of contaminant Hydrology **4:241-273.**

Schwab, A.P., and Banks, M.K. 1994. Biologically mediated dissipation of Polyaromatic hydrocarbons in the root zone. Bioremediation through Rhizosphere Technology, Anderson, T. and J. Coats (eds.), American chemical Society Symposium, series 563, American Chemistry Society Washington, **DC. Pp: 132-141.**

Schwab, A.P. and M.K. Banks. 1994. Biologically mediated dissipation of Polyaromatic hydrocarbons in the root zone**. p.132-141**. In: Anderson, T. and J. Coats (Eds.), Bioremediation through rhizosphere technology, American Chemistry Society, Washington .DC.

Schwendinger, R. B. 1968. Reclamation of soil contaminated with oil. **Journal of the Institute of Petroleum. 54, 182-197.**

Selvakumar, G. and Thamizhiniyan, P. (2011) The Effect of the Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungus Glomus intraradices on the Growth and Yield of Chilli (Capsicum annuum L.) Under Salinity Stress. **World Applied Sciences Journal 14: 1209-1214.**

Sims, R. C. and J. L. Sims. 1999. Landfarming of petroleum contaminated soils. PP. 767–781. *In*: Adriano, D.C., Bollag, J.M. and Sims, R.C. (Eds.), Bioremediation of Contaminated Soils Agronomy. **No. 37. ASA. CSSA. SSSA, Madison, WI.**

Singh, O. V., & Jain, R. K. (2003). Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. **Applied microbiology and biotechnology, 63(2), 128-135.**

Smith, M.J., Flowers, T.H., Duncan, H.J., and Alder, J. 2005. Effects of PAHs on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAH residues. **J. Environ. Pollute. 101: 1-7.**

Smith, S.E. and D.J. Read. (1997) Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, San Diego, CA.

Suseo J, Sookeum Y and li QX. 2009. Bacterial degradation of aromatic compounds. International Journal Environment Research Public Health **6: 278-309.**

Tanee, F. B. G., & Akonye, L. A. (2009). Effectiveness of Vigna unguiculata as a phytoremediation plant in the remediation of crude oil polluted soil for cassava (Manihot esculenta; Crantz) cultivation. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 13(1).**

Teng Y., Luo Y., Sun M., Liu Z., Li Zh. And Christie P. (2010)" Effect of bioaugmentation by Paracocus sp. Strain HPD-2 on the soil microbial community and removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from an aged contaminated soil Bioresource Technology **101:3437-3443.**

Thoma G.J., Lam T.B. and Wolf D.C. (2003a) "Mathematical modeling of phytoremediation of oil-contaminated soil" Model development. Int: J**. Phytorem. 5: 41-55.**

Thoma G.J., Lam T.B. and Wolf D.C. (2003b) "Mathematical modeling of phytoremediation of oil-contaminated soil" Sensitivity analysis. Int**: J. Phytorem. 5: 125-136.**

Tomas, G. W. (1996) soil pH and soil acidity.**P. 475-490.** In: Sparks D.L., Page A.L., Helmke P. A. and Loeppert R.H. "method of soil analysis" Poblished by: soil science society of American, Inc. American society of agronomy. **Inc. Madison, Washington, USA.**

U.S. EPA 40 CFR Part 136. "Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act: Final Rule and Interim Firal Rule and Proposed Rule." **October 26. 1984.**

U.S. EPA. 2001. Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. **EPA/540/S-01/500**. Office of Research and Development, Washington, **DC. February 2001.**

Valentin, L., Lu. chau, T.A., Lopez, C., Feijoo, G., Moreira, M.T., Lema, J.M., "Biodegradation of dibenzothiopHene, fluoranthene, pyrene and chrysene hn a soil

slurry reactor by white. rot fungus Bjerkandera sp. BOS55", Process Biochemistry, Vol. **42, pp. 641. 648, 2007.**

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: 5004-5007**.

Vogel-Mikus, K., Pongrac, P., Kump, P. , Necemer , M. & Regvar, M. 2006. Colonization of Zn, Cd and Pb hyper accumulator Thlaspi praecox with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changens in heavy metal and nutrient uptake. **Environmental Pollution 139:362-371.**

Walkley A, 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.**

Wanger-Dobler I.(2003) "Microbial inoculants-snak oil or panavea? Bioremediation" A critical review. Horizontal scientific press**. Pp. 260-280.**

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

Wilk W. (2007) "Global patterns of polycyclic hydrocarbons (PAHs) hn soil" Geoderma **141, 157-166.**

Wilts, C.C., Rooney, W.L., Chen, Z., Schwab, A.P., and Banks, M.K. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crud oil phytoremediation potential among alfalfa genotypes. J. Environ. Qual. **27(1): 169-73.**

Wolicka D., Suzek A., Borkowski A. and Bielecka A. (2009) "Application of aerobic microorganisms in bioremediation in site of soil contaminated by petroleum products" J. Biores. Technol. **100: 3221-3227.**

Wright, D.P., J.D. Scholes and D.J. Read. (1998) Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of Trifolium repens L., Plant, Cell and Environ. **21:209–216.**

Xu, G., Sun, J., Shao, H., Chang, S.X. (2014). Biochar had effects on phosphorus sorption and desorption in three soils with differing acidity. ***Ecological Engineering,*** **62,: 54-60.**

Xu, J.G. and R.L. Johnson. 1997. Nitrogen dynamics in soils with different hydrocarbon contents planted to barley and field pea. Canadian J. Soil Sci. **77: 453-458.**

Xu S.Y., Chen Y.X., Wu W.X., Wang K.X., Lin Q. and X.Q. Liang. 2005. Enhanced cultivation. Sci. Total Environ. **363: 206–215.**

Yamato, M., Okimori, Y., Wibowo, I. F., Anshiori, S. and Ogawa, M.(2006) "Effects of the application of charred bark of Acacia mangium on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in South Sumatra, Indonesia", Soil Science and Plant Nutrition, vol **52, pp489-495.**

Yousefi kebria D, Khodadadi A, Ganjidoust H, Badkoubi A and Amoozegar MA. 2009. Isolation and characterization of a novel native *Bacillus* strain capable of degrading diesel fuel. International Journal of Environment Science and Techniques **6(3): 435-442.**

Abstract

Soil contamination with petroleum compounds was observed since the petroleum exploration in Iran have been started in the lastcentury,. Theaccumulation of these compounds in the environment threaten the health of soil and water resources. This research was conducted with the purpose of reaching to an efficient approach for the remediation of soils polluted with petroleum compounds. In this research the effect of biochir, mycorrhizae fungi and combination of biochar with mycorrhizae were studied. The analyses showed that highest yield of Trifolium plant was in mycorrhizae treatment. Total hydrocarbons decreased until 47.5% in control treament (only plant) and until 75% at the presence of mycorrhizae symbiosis. The highest yield of .... was observed in biochar+ mycorrhizae (until 75%) and the lowest in control (35%). Also, the study of 16 compounds of alkanes showed that the plant with all of the mentioned compounds had the highest decomposition rate. And the control sample without plant showed the least amount of decomposition.

Keywords: Soil Pollution, Petroleum hydrocarbons, Biochir, Arbuscular mycorrhizal fungi, Clover, Mallowa.

Shahroud University of Technology

Faculty of Agriculture

M.Sc . The sis in Soil Chemistry and Fertility

Remediation of Soils Polluted With Crude Oil by Biochar and Two Native Plants in Ghachsaran Region.

By: farshad Zohrabi

Supervisor:

Dr. Ali. Abbaspour

Adviser:

Dr. Vajiheh. Dorostkar

Junuary 2018