علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره هجدهم، ویژه نامه شماره۲، پاییز ۱۳۹۵

زیست پالایش خاک‌های آلوده به نفت خام سبک توسط بقولات

بهاره لرستانی [۱*]

Saba12ir@yahoo.com

راشین نوری [۲]

نسرین کلاهچی [۳]

تاریخ دریافت:۹۲/۰۵/۰۵ تاریخ پذیرش:۹۳/۰۷/۰۶

چکیده

زمینه و هدف: آلودگی خاک به ترکیبات نفتی یکی از شایع ترین معضلات زیست محیطی است که به هنگام استخراج، انتقال و پالایش سبب ورود هیدروکربن های پایدار به محیط و سرانجام آلودگی خاک می شود. آلودگی نفتی می تواند سبب آسیب به محیط زیست، جمعیت جانوری و گیاهی شود. زیست پالایی گیاهی فن آوری اقتصادی و دوستدار محیط زیست است که با کمک گیاهان می تواند سبب کاهش ترکیبات نفتی از خاک شود. می تواند روشی مناسب برای پاک سازی ترکیبات نفتی از خاک باشد. این مطالعه با هدف بررسی زیست پالایی خاک های آلوده به نفت خام سبک توسط بقولات انجام یافته است.

روش بررسی: در این مطالعه بررسی توانایی استقرار و رشد گونه های خلر (lathyrus sativus)، عدس (lens culinaris)، شنبلیله (Trigonella foenum)، شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr) از خانواده بقولات (fabaceae) در خاک های آلوده به نفت خام سبک به غلظت های مختلف (۱، ۲، ۳، ۴٪) در مدت ۴۰ روز در قالب یک طرح کاملا تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین به منظور بررسی پتانسیل حذف ترکیبات نفتی از خاک با استفاده از روش گیاه پالایی، میزان کاهش ترکیبات نفتی از خاک آلوده توسط این گونه ها اندازه گیری شد.

یافته ها: میزان کاهش بیش‌تر ترکیبات نفتی از خاک میزان ۷۳/۳٪ در تیمار ۱٪ در گونه خلر (Trigonella foenum) و میزان کاهش کمتر ترکیبات نفتی از خاک میزان ۳۸/۶٪ در تیمار ۴٪ در گونه¬ شنبلیله (Trigonella foenum) مشاهده. همچنین ضریب همبستگی پیرسون نشان داد که افزایش وزن خشک در گیاه میزان کاهش آلودگی نفتی را از خاک افزایش داده است.

نتیجه گیری: با توجه به کارایی قابل قبول گونه های مورد بررسی در پاک سازی آلودگی نفتی و صرفه جویی اقتصادی گیاه پالایی نسبت به سایر روش های پاک سازی خاک، استفاده از این روش برای مناطق آلوده ایران توصیه می شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی ، بقولات، پالایش، ترکیبات نفتی، خاک، محیط زیست.

۱*-(مسوول مکاتبات): دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد آلودگی‌های محیط‌زیست، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، ایران.

۳- استادیار گروه محیط زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، ایران.

J.Env. Sci. Tech., Vol 18, Special No.2, Autumn 2016

Bioremediation of soil contaminated with light crude oil using Fabaceae family

Bahareh Lorestani [1]*
Saba12ir@yahoo.com
Rashin Nouri [2]
Nasrin Kulahchi [3]

Abstract

Soil pollution by petroleum compounds is one of the most common environmental problems, which causes soil contamination during extracting, transferring and refining. Bioremediation is an economic technology that makes use of plants to reduce oil pollution in soil. The aim of this study was to evaluate growing ability of Lathyrus sativus, Lens culinaris, Trigonella foenum and Glycyrrhiza glabr of the Fabaceae family in the soil contaminated with light crude oil. Also potential oil removal from soil by these species through bioremediation was shown. In this study, after examining the developmental stage of 4 samples of Fabaceae plant family, potential of removing hydrocarbons from the soil contaminated by light crude oil with different concentrations (1, 2, 3, and 4%) at 40 days in Completely Randomized Design (CRD) was investigated. The result shows that the maximum possibility of pollution reduction is in *lathyrus sativus* with 73.3% in sample (1%) and the minimum possibility of pollution reduction is in *Trigonella foenum* with 38.6 in sample (4%). Moreover, Person's correlation coefficient showed that by increasing dry weight of the plant, the amount of pollution reduction in the soil increases. Given the acceptable performance of oil pollution cleanup by these species and economic saving as compared to other methods, the use of this method is recommended for the contaminated areas in Iran.

Keywords: Bioremediation, Environmental, Fabaceae, Hydrocarbons compounds pollution, Soil.

1- Associate Professor Department of Environment Faculty of Sciences, Islamic Azad University of Hamedan, Iran.* *(Corresponding Author)*
2- M.Sc. Student Department of Environmental Pollution, Islamic Azad University of Hamedan, Iran.
3- Assistant Professor Department of Environment Faculty of Sciences, Islamic Azad University of Hamedan, Iran.

مقدمه

در میان گستره آلوده کننده های محیطی آب و خاک، هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه‌ای و آفت‌کش‌ها به نگرانی‌های زیست محیطی تبدیل شده‌اند (۱). خواصی مانند مقاومت در برابر تجزیه و گستره پخش هیدروکربن‌های نفتی سبب پایداری آن‌ها در محیط‌زیست شده است. از سویی این ترکیبات به دلیل سمیت، جهش زایی و سرطان زایی در سلامت عمومی مطرح می‌باشند (۲). همین طور این خصوصیات موجب پیوستن آن ها به ذرات خاک و رسوب شده و منجر به کاهش دسترسی زیستی به این آلاینده ها جهت جذب بیولوژیکی می‌گردد (۳و۴). همچنین افزایش چشمگیر قابلیت تجمع این آلاینده‌ها در خاک سبب رسوب در محیط های آبی می شود (۵). در مجموع نگرانی جدی محیط زیستی راجع به وجود هیدروکربن‌های نفتی در محیط به علت سرطان‌زایی ترکیبات آن‌ها برای حیوانات، ایجاد جهش در باکتری‌ها، سمیت آن‌ها برای رشد گیاهان و امکان ورود به زنجیره غذایی می‌باشد (۶). پس ضرورت دارد که این مواد به طریقی از محیط زیست حذف شوند. گستره وسیعی از فن‌آوری‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مختلف نظیر تصفیه حرارتی، تثبیت و جامد سازی و زیست پالایی، جهت رفع آلودگی از خاک ایجاد شده و مورداستفاده قرار گرفته اند. روش‌های فیزیکی و شیمیایی جهت حذف آلودگی از مناطق با وسعت نسبتاً کم و خاک های در شت دانه کاربرد دارند و برای مساحت های زیاد نظیر خاک‌های آلوده به مواد صنعتی، مواد نفتی، محل‌های معدن کاری و نظایر آن بسیار پر هزینه هستند (۷). ذرات رسی ۲۰ تا ۵۰ درصد از عمده خاک‌های آلوده را تشکیل می‌دهند و پاک سازی این خاک‌ها با روش‌های فیزیکی و شیمیایی به راحتی ممکن نیست لذا خاک‌های که درصد بیش‌تر آن‌ها از رس تشکیل شده است به فرآیندهای بیشتری برای پاک‌سازی نیاز دارند بنابراین روش گیاه پالایی برای این نوع از خاک‌ها توصیه می شود (۸). زیست پالایی گیاهی فن‌آوری مبتنی بر تلفیق فعالیت گیاهان و جامعه میکروبی همراه آن برای تجزیه، انتقال، غیرفعال کردن و ساکن سازی ترکیبات آلاینده خاک و آب‌های زیرزمینی است (۹). در فن‌آوری گیاه‌پالایی، ریشه گیاهان اثر تحریکی بر فعالیت‌های میکروبی دارد که سبب می شود شرایط و محیط مناسب برای رشد و تکثیر جمعیت میکروبی فراهم شود که نتیجه آن کاهش آلاینده نفتی از خاک است (۱۰). در این میان انتخاب گیاه از اهمیت زیادی برخورد است. در تحقیق صورت گرفته توسط Merkel (۲۰۰۵) نشان داده است که عدم تثبیت نیتروژن می‌تواند سبب آسیب آلودگی نفتی بر گیاهان شود چرا که خاک‌های آلوده کاهش توانایی ریشه‌ها در جذب مواد غذایی را در بر دارد، او برای رفع این مشکل از کودهای گیاهی جهت تثبیت نیتروژن استفاده کرده است که با ترکیب لگوم‌های داخل خاک این مشکل حل خواهند شد و سبب بهبود و اصلاح حاصلخیزی خاک شود (۱۱). اما این روش برای مناطق گسترده زمان بر و پرهزینه می باشد. برای حل مشکلات پیش رو و رسیدن به کارآمدترین روش برای پاک سازی خاک های آلوده به ترکیبات نفتی تحقیق حاضر با استفاده از روش زیست پالایی گیاهی با بهره گیری از گونه مناسب انتخاب شد. بقولات به دلیل قابلیت تثبیت نیتروژن خاک، گونه‌های مناسبی برای گیاه پالایی می‌باشند. در این گیاهان رقابتی بین گیاه با جمعیت میکروبی برای نیتروژن خاک صورت نمی‌گیرد که نتیجه آن همکاری مناسب بین باکتری‌ها و گیاه در جهت حذف و کاهش آلودگی نفتی خاک می‌باشد (۱۲). بنابراین مطالعات کتابخانه ای به منظور شناسایی گونه های گیاهی مقاوم و مستعد در حذف آلودگی های نفتی از خاک با توجه به پژوهش های انجام شده در این زمینه انجام گرفت. گیاهان مورد استفاده باید دارای سازگاری با شرایط متفاوت، اقلیم‌های گوناگون و خاک‌های مختلف بوده و به علاوه توانایی جذب یا تجزیه مواد آلوده را داشته باشند تا بتوان از آن‌ها برای پاک‌سازی استفاده کرد (۱۳).

بنابراین از گونه های گیاهی یک ساله چون گونه های خلر (lathyrus sativus)، عدس (lens culinaris)، شنبلیله (Trigonella foenum)، شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr) از خانواده بقولات که قابلیت کشت در اکثر شرایط آب و هوایی را دارند استفاده شد. در نتایج پژوهش مشابهی که توسط Akaninwor (2007) انجام گرفته، نشان داده شده است که گیاه ذرت در غلظت ۵ درصد قادر به رشد و جوانه‌زنی بوده است اما در غلظت‌های بالاتر از این مقدار پروتیین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها را شکسته و گیاه قادر به رشد و جوانه‌زنی نبوده است (۱۴). بنابراین این تحقیق با هدف بررسی توان پایداری گیاه در غلظت های (۱، ۲، ۳ و ۴٪) و تعیین میزان پالایش آلودگی نفتی از خاک آلوده انجام گرفت.

روش بررسی

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می تواند رشد گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به این امر برای اطمینان از استقرار گیاه در محیط زیست تلاش شد عوامل موثر در رشد گیاه تحت کنترل قرار گیرد، تا بتوان با اطمینان ادعا کرد که گیاهان مورد مطالعه از پایداری مناسبی در این نوع خاک ها جهت پاک سازی خاک های آلوده به نفت خام سبک برخوردارند. همچنین بتوان با درصد ادعا کرد که حذف آلودگی نفتی صورت گرفته صرفا مربوط به گونه مورد نظر است و خصوصیات خاک در افزایش و کاهش آن تاثیر قابل توجهی نداشته است. برای این منظور خاک مورد مطالعه از مناطق مختلف اطراف همدان به صورت تصادفی تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت. سرانجام از بین نمونه های مورد نظر خاکی انتخاب شد که از شرایط مورد نظر برخوردار باشد. به منظور آشنایی با خصوصیات خاک مورد مطالعه پس از عبور نمونه خاک از سرند ۲، برخی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک با استفاده از روش های شناخته شده تعیین گردید. روش هیدرومتری برای تعیین بافت خاک، روش والکی و بلک برای میزان کربن آلی خاک، روش کجلدال برای میزان نیتروژن خاک، روش اولسن برای میزان فسفر خاک، روش والکی و بلک برای میزان مواد آلی خاک، میزان PH خاک با استفاده از PH متر و میزان EC

خاک با استفاده از EC سنج تعیین گردید که در جدول ۱ میزان آن ها ذکر شده است (۱۵).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1- Physiochemical properties of soil

پارامتر	مقدار	روش
شن (درصد)	۳۵	هیدرومتری
سیلت (درصد)	۱۹	هیدرومتری
رس (درصد)	۴۳	هیدرومتری
بافت خاک	لوم رسی	هیدرومتری
PH	۷	PH متر
EC (دسی زیمنس بر متر)	۲/۹۳	EC سنج
کربن آلی (درصد)	۰/۸۶	والکلی بلک
نیتروژن (درصد)	۰/۰۵	کجلدال
فسفر (میلی گرم بر کیلوگرم)	۱۲	اولسن
مواد آلی (درصد)	۶/۱۲	والکلی بلک

نتایج حاصل از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه نشان می‌دهد که میزان هدایت الکتریکی برابر ۲/۹۳ می‌باشد پس به دلیل کمتر بودن از ۴ دسی زیمنس رشد گیاه را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد (۱۶). همچنین نسبت کربن به نیتروژن ۱۷/۲ شد. هر چه میزان نسبت کربن به نیتروژن بیش‌تر شود سبب افت کارایی گیاه پالایی می‌شود (۱۷). اهمیت مواد آلی به تاثیر آن در بهبود خصوصیات فیزیکی خاک، حفظ آب و افزایش قابلیت استفاده عناصر غذایی می باشد این اثرات بایستی در نهایت به افزایش زیست توده و تولید محصول منجر شود (۱۸). Loveland و Webb (۲۰۰۳) گزارش کرده اند که کربن آلی مناسب خاک برای رشد گیاه ۲-۳٪ می باشد و کمتر از این مقدار پتانسیل خاک شدیدا کاهش می یابد. PH خاک نیز بر قابلیت دسترسی مواد غذایی تاثیر دارد PH مناسب برای رشد گیاه ۶-۷ می باشد (۱۹).

بررسی استقرار و رشد گونه ها

کاشت گیاه در گلدان به میزان ۴۰۰ گرم خاک پس از مخلوط شدن به صورت دستی با در صدهای مختلف نفت خام سبک (۲،۲،۳، ۴ حجمی/ وزنی) در ۳ تکرار آماده گردید. برای مثال در تیمار ۱٪ میزان ۴ گرم، در تیمار ۲٪ ۸ گرم، در تیمار ۳٪ ۱۲ گرم و برای تیمار ۴٪ ۱۶ گرم نفت خام سبک به خاک اضافه و به صورت دستی مخلوط شد. میزان یک مورد تیمار شاهد جهت محاسبه میزان تبخیر نفت خام سبک توسط عوامل جوی برای هر تکرار به عنوان شاهد خشک در زیر یک سقف محافظ قرار داده شد تا از دسترسی آب باران دور باشد و یک تیمار شاهد بدون گیاه جهت محاسبه میزان آب شویی برای هر تکرار که همانند سایر تیمارها آب دهی شود قرار داده شد. همچنین یک تیمار شاهد دارای گیاه و بدون آلودگی برای مقایسه رشد گیاه با تیمارهای آلوده در نظر گرفته شد. پس از آن نسبت به کاشت بذرهای گونه‌های خلر (lathyrus sativus)، عدس (lens culinaris)، شنبلیله (Trigonella foenum)، شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr) به صورت ۱۰ عدد در هر تیمار اقدام گردید (۲۰). گیاهان در شرایط طبیعی نگه داری شدند. پس از طی مرحله رشد، گیاهان در طرح بلوک های تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند. در پایان آزمایش گیاهان از خاک خارج و با آب شستشو داده شدند تا خاک از ریشه جدا گردد. سپس شستشوی مجدد با آب مقطر انجام شد. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، گیاه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلیسیوس آون نگهداری و وزن خشک کل اندام‌های گیاهی، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاهان ثبت گردید (۲۱).

اندازه گیری میزان حذف ترکیبات نفتی از خاک

پس طی مرحله رشدی استخراج مواد نفتی از خاک آلوده صورت گرفت. برای جدا سازی ترکیبات از خاک به ۱ گرم خاک، ۱۰ میلی لیتر حلال دی کلرومتان اضافه شد. این حلال به دلیل عدم واکنش با آب، فرار بودن و بازیابی آسان از مخلوط در این مطالعه استفاده شد. مخلوط به شدت تکان داده شد تا نفت موجود درخاک توسط حلال جدا شود. سپس مخلوط سانتریفوژ گردید تا خاک از حلال جدا شود. فاز حلال به ظروفی که از قبل وزن شده بود منتقل و اجازه داده شد که حلال در مجاورت هوا به مدت ۲۴ ساعت تبخیر شود. سپس ظرف دوباره وزن گردید که تفاوت وزن آن با وزن اولیه ظرف خالی، مشخص کننده مقدار نفت استخراج شده از خاک است.

مقدار نفت استخراج شده از هر نمونه با مقدار نفت خاک در شروع کاشت، مقایسه و کاهش آن به صورت درصد کاهش مشخص شد (۲۲).

بررسی آماری

نتایج مربوط به جوانه زنی و ماندگاری با آزمون آماری تحلیل واریانس و نتایج مربوط به وزن خشـــک و نفت حذف شـــده با آزمون آماری رگرســـیون مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها

بررسی پایداری گونه‌ها

نتایج حاصل از بررسی درصد جوانه‌زنی (جدول ۲) نشان دهنده روند کاهشی درصـــد جوانه زنی با افزایش آلودگی نفتی بوده اســـت. همچنین آنالیز آماری انجام گرفته نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی تیمار شاهد و تیمارهای آلوده شـــده با غلظت های مختلف نفت خام ســـبک وجود دارد. درصد جوانه زنی گونه شنبلیله در تیمارهای آلوده در مقایسه با سایر گونه ها قابلیت رشـد بیش‌تری را داشـت. درصـد جوانه زنی در گونه خلر روند نزولی داشـت، اما در آلوده ترین تیمار نیز میزان جوانه زنی مناسـب (۶۶/۶ درصـد) مشاهده شد. در گونه شیرین بیان روند در صد جوانه زنی در تیمارهای آلوده روند نزولی داشـــت، به طوری که در آلوده ترین تیمار با افت زیادی در میزان در صد جوانه زنی (۲۰در صد) رو به رو بودیم. گونه عدس و شنبلیله نیز مانند سایر گونه ها روند کاهشی داشتند، به طوری که در تیمار ۴ درصد این میزان برای عدس (۶۶/۶ درصـد) و برای شـنبلیله (۷۶/۶ درصـد) اما این کاهش به حدی نبود که از ادامه مطالعات کنار گذاشته شوند.

جدول۲- نتایج اندازه گیری شاخص درصد جوانه‌زنی گونه‌های خلر(lathyrus sativus)، عدس (lens culinaris)، شنبلیله (Trigonella foenum)، شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr) در غلظت‌های مختلف نفت (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴٪) ± انحراف معیار

Table 2-The results measure germination percentage Lathyrus species (lathyrus sativus), lentils (lens culinaris), fenugreek (Trigonella foenum), Licorice (Glycyrrhiza glabr) oil in different concentrations (0, 1, 2, 3 and 4%) ± standard deviation

گونه های مورد مطالعه	غلظت‌های مختلف نفت خام سبک				
	شاهد	٪۱	٪۲	٪۳	٪۴
خلر (Lathyrus sativus)	۱۰۰	۹۳/۳	۸۳/۳	۷۶/۶	۶۶/۶
	-	±۰/۲۱	±۰/۳۹	±۰/۴	±۰/۴۴
شیرین بیان (Glycyrrhiza glabrad)	۹۳/۳	۸۰	۶۳/۳	۴۰	۲۰
	-	±۰/۲۱	±۰/۳۹	±۰/۴	±۰/۴۴
عدس (Lens culinaris)	۱۰۰	۹۰	۹۰	۷۰	۶۶/۶
	-	±۰/۲۳	±۰/۲۹	۰/۱۴	±۰/۴۲
شنبلیله (Trigonalla fienum)	۱۰۰	۹۶/۶	۹۰	۸۳/۳	۷۶/۶
	-	±۰/۱۱	±۰/۱۲	±۰/۲۱	±۰/۲۳

نتایج حاصل از بررسی درصد ماندگاری (جدول ۳) نشان دهنده روند کاهشی درصـــد ماندگاری با افزایش آلودگی نفتی بوده اســـت. همچنین آنالیز آماری انجام گرفته نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین درصد ماندگاری تیمار شاهد و تیمارهای آلوده شـــده با غلظت‌های مختلف نفت خام ســـبک وجود دارد. درصـد ماندگاری گونه شـنبلیله و شـیرین بیان در تیمارهای آلوده روند مشـابهی را نشـان دادند. کمترین درصـد ماندگاری این دو گونه که به ترتیب برای گونه شنبلیله (۳۹/۱ در صد) و برای گونه شیرین بیان (۳۳/۳ در صد) در تیمار ۴ درصـــد بود. درصـــد ماندگاری گونه خلر و عدس نیز در تیمارهای آلوده روند مشـابهی را نشـان دادند. کمترین درصـد ماندگاری این دو گونه که به ترتیب برای گونه خلر (۷۵ در صد) و برای گونه عدس (۶۵ در صد) در تیمار ۴ در صد بود.

جدول ۳- نتایج اندازه گیری شاخص درصد ماندگاری گونه‌های خلر(lathyrus sativus)، عدس (lens culinaris)، شنبلیله (Trigonella foenum)، شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr) در غلظت‌های مختلف نفت (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴٪) ± انحراف معیار

Table 3- The results measure germination percentage Lathyrus species (lathyrus sativus), lentils (lens culinaris), fenugreek (Trigonella foenum), Licorice (Glycyrrhiza glabr) oil in different concentrations (0, 1, 2, 3 and 4%) ± standard deviation

گونه های مورد مطالعه	غلظت‌های مختلف نفت خام سبک				
	شاهد	٪۱	٪۲	٪۳	٪۴
خلر (Lathyrus sativus)	۱۰۰	۸۲/۱	۷۶	۷۸/۳	۷۵
	-	±۲/۲	±۳/۴	±۳/۶	±۳/۴
شیرین بیان (Glycyrrhiza glabrad)	۸۹/۲	۶۲/۵	۵۲/۶	۵۰	۳۳/۳
	±۲/۵	±۳/۸	±۳/۷	±۴/۳	±۲/۳
عدس (Lens culinaris)	۱۰۰	۷۷/۷	۷۴/۷	۷۱/۴	۶۵
	-	±۲/۲	±۳/۴	±۲/۴	±۳/۳
شنبلیله (Trigonalla fienum)	۹۳/۳	۹۸/۹	۵۹/۲	۵۲	۳۹/۱
	±۱/۵	±۲/۸	±۲/۷	±۳/۳	±۲/۳

پتانسیل حذف نفت

مقدار نفت خام حذف شده جدول ۴ در خاک نشان داده شده است. نتایج فوق نشـــان می دهد که گونه های مورد مطالعه در تیمارهایی با آلودگی کم‌تر کارآیی بیش‌تری از خود نشان دادند. هم‌چنین مقایسه تیمارهای بدون پوشش گیاهی و تیمارهای همراه پوشش گیاهی نشان می دهد که خاک کاشته شده با گیاه، نفت بیش‌تری را از دسـت داده اسـت. بیش‌ترین میزان حذف آلودگی نفتی تو سط گونه خلر ۷۳/۳ در صد در تیمار ۱ در صد و کم‌ترین میزان ۵۹/۱ در تیمار ۴ درصد بود. بیش‌ترین میزان حذف آلودگی نفتی توسط گونه عدس ۶۵/۴ در صد در تیمار ۱ در صد و کم‌ترین میزان ۵۹/۱ در تیمار ۴ در صد بود. بیش‌ترین میزان حذف آلودگی نفتی توسط گونه شیرین بیان ۲۸/۷ درصد در تیمار ۱ درصد و کم‌ترین میزان ۱۸/۵ در تیمار ۴ درصد بود. بیش‌ترین میزان حذف آلودگی نفتی توسـط گونه شـنبلیله ۵۰/۷ درصـد در تیمار ۱ درصـد و کم‌ترین میزان ۳۸/۶ در تیمار ۴ درصد بود.

جدول ۴- نتایج درصد نفت حذف شده تیمارهای کشت شده گونه‌های خلر(lathyrus sativus)، عدس (lens culinaris)، شنبلیله (Trigonella foenum)، شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr)، و همچنین شاهد مرطوب و شاهد خشک در غلظت‌های مختلف نفت (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴٪)

Table 4-The results of the oil is removed by cropping species of grass pea (lathyrus sativus), lentils (lens culinaris), fenugreek (Trigonella foenum), Licorice (Glycyrrhiza glabr), and also the wet and dry control oil in different concentrations (0, 1, 2, 3 and 4%)

تیمار	غلظت‌های مختلف نفت خام سبک			
	٪۱	٪۲	٪۳	۴٪
خلر (Lathyrus sativus)	۷۳/۳	۶۲/۵	۶۴/۸	۵۹/۱
شیرین بیان (Glycyrrhiza glabrad)	۲۸/۷	۲۵	۲۱/۸	۱۸/۵
عدس (Lens culinaris)	۶۵/۴	۵۵/۱	۵۰/۲	۴۷/۲
شنبلیله (Trigonalla fienum)	۵۰/۷	۴۵/۷	۴۲/۳	۳۸/۶
شاهد مرطوب	۱/۴	۱۷/۲	۱۶/۳	۱۵/۸
شاهد خشک	۱۲/۸	۱۲/۵	۱۱/۸	۱۱/۳

پس از نرمال بودن داده ها توسـط آزمون کلموگروف- اسـمیرنوف مشـخص شـد. آزمون همبسـتگی پیرسـون بر روی داده ها نیز انجام یافت. با توجه به نتایج همبســتگی وزن خشــک و درصــد نفت حذف شــده (جدول ۵) که همبســتگی مثبت بین این دو عامل را نشــان می‌دهد. در گونه های مورد مطالعه افزایش وزن خشـک حذف آلاینده های آلی بیش‌تری را همراه داشـته است.

جدول ۵- نتایج ضریب همبستگی پیرسون بین بیوماس خشک گونه‌های Lathyrus sativus، Lens culinaris، Trigonalla fienum و Glycyrrhiza glabr و درصد نفت حذف شده (p-value< ۰/۰۰۰۵) معنی دار در سطح احتمال ۵٪

Table 5- The results of Pearson correlation coefficient between dry biomass species Lathyrus sativus, Lens culinaris, Trigonalla fienum and Glycyrrhiza glabr and the percentage of oil removed

گونه مورد مطالعه	ضریب همبستگی	p-value
خلر(Lathyrus sativus)	۰/۹۸	۰/۰۰۰
شیرین بیان (Glycyrrhiza glabrad)	۰/۵۱	۰/۰۰۰
عدس (Lens culinaris)	۰/۷۳	۰/۰۰۰
شنبلیله (Trigonalla fienum)	۰/۹۶	۰/۰۰۰

بحث و نتیجه گیری

جوانه‌زنی یک مرحله مهم در رشد گیاه است که به وجود آلاینده‌های مختلف در خاک حساس می‌باشد. در این مطالعه مرحله جوانه زنی تمای گونه ها روند کاهشی را از خود نشان دادند که این نتیجه به دلیل استرس ناشی از نفت قابل پیش بینی بود. اما با توجه به قابل قبول بودن درصد جوانه زنی در تیمار ۴٪ به ادامه مطالعه یافت. در مطالعه Anigboro وTonukari (۲۰۰۸) کاهش درصد جوانه‌زنی لوبیای چشم بلبلی به نتیجه افزایش آلودگی نفتی نسبت داده شده است. آنزیم آمیلاز با تبدیل نشاسته به مونوساکاریدها، انرژی و کربن مورد نیاز برای تنفس و سنتز ترکیبات بی شمار برای رشد و جوانه‌زنی را فراهم می‌کند (۲۳). در گونه‌ی خلر (lathyrus sativus) و عدس (lens culinaris) ماندگاری خوب بود، اما در گونه شنبلیله (Trigonella foenum) و شیرین بیان (Glycyrrhiza glabrad) کاهش شدیدی در ماندگاری مشاهده شد. با توجه به ۴ گونه مورد مطالعه، پایان زمان مورد نظر مقاومت نمودند. بنابراین کارایی آن ها جهت پاک سازی زیستی خاک آلوده به نفت خام سبک نیز مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به مقدار نفت خام حذف شده ۶۴/۹ در صد توسط گونه خلر، ۲۳/۵ در صد توسط گونه شیرین بیان، ۵۴/۵ درصد توسط گونه عدس، ۴۴/۴ درصد توسط گونه شنبلیله و با مقایسه حذف این ترکیبات ۱۲/۷ درصد شاهد مرطوب و ۱۲/۱ درصد شاهد که بدون پوشش گیاهی بودند. می‌توان چنین نتیجه گرفت که خاک کاشته شده با گیاه، نفت بیش‌تری از دست داده است. این امر با نتایج Mohsenzade و همکاران (۲۰۰۹) که بیان می‌کند میزان آلودگی نفتی پالایشگاه کرمانشاه در خاک بدون پوشش گیاهی تقریباً سه مرتبه بیشتر از خاک دارای پوشش گیاهی است، مطابقت دارد. این موضوع مؤید اثر و اهمیت پوشش گیاهی در پاک‌سازی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی می‌باشد (۲۴) که نتایج پژوهش حاضر حاکی از تایید این امر است. در گونه های مورد مطالعه افزایش وزن خشک حذف آلاینده های آلی بیش‌تری را همراه داشته است. لذا کاهش هیدروکربن‌های نفتی با کاهش وزن خشک همراه بوده که با نتایج Joner و همکاران (۲۰۰۶) که علت این امر را کاهش میزان نیتروژن به عنوان یک ماده مغذی می دانند و کمبود نیتروژن در خاک غالباً فعالیت های میکروبی آلاینده های آلی خاک را محدود می کند مطابقت دارد (۲۵). به طوری کلی این پژوهش نشان داد که گونه خلر (lathyrus sativus) و عدس (lens culinaris) از پایداری خوبی در خاک آلوده برخوردار بودند و همین طور کارایی بهینه ای در حذف نفت خام سبک داشتند. گونه‌ی شنبلیله (Trigonella foenum) اگرچه از پایداری به نسبت خوبی برخوردارند بود، اما کارایی خوبی در حذف نفت خام سبک از خاک آلوده نداشت. گونه شیرین بیان (Glycyrrhiza glabr) نیز نه تنها کارایی خوبی در حذف نفت خام سبک از خاک آلوده نداشت، بلکه از مقاومت قابل توجهی نیز برخوردار نبود. همچنین همبستگی مثبت بین وزن خشک و حذف نفت نشان داد که می‌توان با توجه به وزن خشک گیاهان، کارایی آن ها را در زیست پالایی گیاهی با درصد بالایی پیش بینی کرد. نتایج حاصل از این تحقیق بیان می‌کند گونه‌های مختلف اگرچه به یک خانواده تعلق دارند، اما پاسخ های متفاوتی به نفت خام سبک نشان می دهند. با توجه به پژوهش حاضر می‌توان چنین نتیجه گرفت که واکنش گیاهان به استرس‌های محیطی به پاسخ ژنتیکی گیاه ارتباط دارد که می‌تواند توسط دیگر عوامل محیطی نیز تحت تأثیر قرار گرفته باشد. بنابراین فرآیند زیست پالایی گیاهی می تواند به عنوان روشی موثر و در عین حال ساده و کم هزینه با حداقل خسارت به محیط زیست جهت پالایش آلاینده های آلی آلاینده‌های نفتی در سطح وسیع باشد، با این فرض که کارایی گونه مورد استفاده آزمایش شده باشد.

منابع

1- Corgie SC., Beguiristain T., Leyval C. (2004). "Spatial Distribution of Bacterial Communities and Phenanthrene Degradation in the Rhizosphere of Lolium perenne L", Applied and Environmental Microbiology, 70(6):3552-3557.

2- Maila M. P., Cloete T. E. (2002). "Germination of Lepidium sativum as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons removals from contaminated soil". International Biodeterioration and Biodegradation, 50: 107-113.

3- Parrish Z.D., Banks M.K., Schwab A.P. (2005). "Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic

hydrocarbon impacted soil". Environmental Pollution, 137:187-197.

4- Luepromchai E., Lertthamrongsak W., Pinphanichakarn P., Thaniyavarn S., Pattaragulwanit K., Juntongjin K. (2007). "Biodegradation of PAHs in petroleum-contaminated soil using tamarind leaves as microbial inoculums". Songklanakarin Journal of Science and Technology, 29(2), 515- 527.

5- Karthikeyan R., Bhandari A. (2001). "Anaerobic biotransformation of aromatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in soil microcosms: a review", Journal of Hazardous Substance Research 3:1-19.

6- Jian Y., Wang PF., Peter H.T Yu. (2004). "Photomutagenicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons from the US EPA priority pollutant list". Mutat Res, 557:99–108.

7- Khan A.G. (2005). "Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation". Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18:355-364.

8- Robertson G.P., D.C. Coleman C.S., Bledsoe and P Sollins. (1999). "Standard soil methods for long-term ecological research". USA: Oxford Univ.

9- Cunningham S D., Anderson AP., Schwab FC Hsu. (1996). "Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants", Adv Agron, 56:56– 114.

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

11- Merkl N., Schultze-Kraft R., Infante C. (2005). "Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleumcontaminated soils". Water, air, & soil pollution, 165, 195-209.

12- Gudin C., Syratt, WJ. (1975). "Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination", Environ. Pollut, 8: 107-112.

13- Adam G. and Duncan H. (2002). Influence of petroleum hydrocarbon on seed germination. Journal of Environmental Pollution 120: 363-370.

14- Akanimwor Jo., Ayeleso A. O., and Monago C. (2007). "Effect of different concentration of crude oil (Bonny light) on major food reserves in guinea corn during germination and growth", Scientific Reserch and Essay, 2(4): 127-131.

۱۵- پرتوی نیا، ع، نعیم پور، ف، « زیست سالم سازی خاک های آلوده به هیدرون کربن های نفتی نرمال هگزادکان درفاز دوغابی و بررسی پارامترهای مؤثر » ۱۳۸۷، پژوهش نفت، شماره ۵۸، ۱۰-۳.

16- McCutcheon S.C. and Schnoor, J.L., (Eds) (2003). Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants. John Wiley & Sons. New Jersey. USA.

17- Xu, J.G., and Johnson, R.L. (1997). Nitrogen dynamics in soils with different hydrocarbon contents planted to barley and field pea. Canadian journal of Soil Science. 77: 453-458.

18- Onemli F. (2004). The effects of soil organic matter on seedling emergence in sunflower. 4: 679-685.

19- Adams P. (1999). Plant nutrition demystified. Proc. Int. Sym. Growing Media and Hydroponics. Ed. A. P. Papdopoulos. Acta Horticulturae 481: 341-344.

20- Nasir H., Iqbal Z., Hiradate S. and Fujii Y. (2005). "Allelopathic potential of Robinia pseudo-acacia L". Journal of Chemical Ecology, 31: 2179-2192

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

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

23- Anigboro A., Tonukari N. (2008). "Effect of crude oil on inverase and amylase activities in Cassava leaf extract and germinating Cowpea seedlings", Asian Journal of Biological Sciences, 1: 56-60.

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

25- Joner E.J., Leyval C., Colpaert, J.V. (2006). "Ectomycorrhizas impede phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) both within and beyond the rhizosphere", Environmental Pollution, 142, 34-38.