

اصلاح خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به روش ترکیبی زمین پالایی-گیاه پالایی

علی اصغر بسالت پور^{۱*}، محمد علی حاج‌عباسی، وجیهه درستکار و غزال ترابی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۱/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۳)

چکیده

حضور ترکیبات نفتی در خاک می‌تواند سبب بروز سمیت برای انسان و سایر موجودات زنده و نیز آلودگی آب‌های زیرزمینی شود، بنابراین حذف این ترکیبات از محیط زیست، امری الزامی است. در این پژوهش ابتدا امکان پالایش دو خاک آلوده به ترکیبات نفتی مناطق اطراف پالایشگاه تهران (لندفیل پالایشگاه و اراضی کشاورزی) به روش زمین پالایی طی یک دوره ۴ ماهه بررسی شد. سپس میزان کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) در خاک‌هایی که پیش از آن تحت فرآیند زمین پالایی قرار گرفته بودند در ریزوسفر دو گیاه آگروپایرون و فسکیو بررسی شد (مطالعه گیاه پالایی). نتایج نشان داد که اعمال تیمار زمین پالایی موجب افزایش فعالیت و تنفس ریزجانداران هر دو خاک شد. فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمار زمین پالایی در خاک کشاورزی به ترتیب در انتهای ماه‌های اول تا چهارم حدود ۲۱، ۴۵، ۲۶ و ۲۳ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود و برای خاک لندفیل نیز تنها در ماه چهارم تفاوت معنی‌داری بین تیمار زمین پالایی و تیمار شاهد دیده نشد. هم‌چنین حدود ۵۰ و ۵۷ درصد کاهش در غلظت TPHs در انتهای دوره پژوهش به ترتیب در دو خاک لندفیل و کشاورزی در تیمار زمین پالایی نسبت به تیمار شاهد حاصل شد. در مطالعه گیاه پالایی، حضور آلاینده‌های نفتی در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد موجب کاهش رشد و عملکرد ماده خشک گیاهان مورد مطالعه شد. تنفس میکروبی در ریزوسفر آگروپایرون و فسکیو در خاک لندفیل در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد بیشتر از خاک آلوده بدون گیاه بود. هم‌چنین فعالیت آنزیم اوره‌آز در ریزوسفر فسکیو و آگروپایرون، بیشتر از خاک آلوده بدون گیاه بود. در تیمار زمین پالایی در خاک لندفیل و در حضور فسکیو و آگروپایرون به ترتیب بیش از حدود ۲۰ و ۴۰ درصد از غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی نسبت به خاک بدون گیاه کاسته شد و در خاک کشاورزی نیز آگروپایرون نسبت به فسکیو نقش مؤثرتری بر کاهش غلظت TPHs در این تیمار داشت.

واژه‌های کلیدی: زمین پالایی، گیاه پالایی، آلاینده‌های نفتی، اوره‌آز، تنفس میکروبی

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و دانشجویان کارشناسی ارشد و کارشناسی خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a_besalatpour@ag.iut.ac.ir

مقدمه

ترکیبات نفتی از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های آلی محیط زیست به ویژه خاک هستند که به سبب سمی بودن و خصوصیات سرطان‌زایی برای موجودات زنده به ویژه انسان ورود آنها به طبیعت به یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های حامیان محیط زیست تبدیل شده است (۱۲). از سویی این دسته از آلاینده‌های آلی پایداری زیادی در خاک دارند و انباشته شدن تدریجی آنها در خاک در طول زمان، نه تنها موجب اختلال در کارکرد طبیعی خاک مانند کاهش عملکرد محصولات کشاورزی، تغییر در ویژگی خاک‌های آلوده که امروزه به سبب هزینه کم و آثار جانبی ناچیز بر محیط زیست بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، برخی روش‌های زیستی مانند فرآیندهای زمین‌پالایی (Landfarming) و گیاه‌پالایی (Phytoremediation) هستند. فرآیند زمین‌پالایی، فناوری پالایش خاک‌های آلوده سطحی است که باعث کاهش غلظت ترکیبات آلاینده نفتی از طریق تخریب زیستی این ترکیبات می‌شود. در این فناوری خاک آلوده به طور کامل برداشت شده و به صورت یک لایه با ضخامت کم روی سطح زمین گسترده می‌شود و سپس از طریق هوادهی خاک آلوده به واسطه زیورور نمودن آن، تأمین رطوبت کافی در خاک و گاهی افزودن عناصر غذایی و مواد معدنی به خاک آلوده، فعالیت ریزجانداران هوازی تجزیه‌کننده نفت در خاک را تحریک می‌نماید. حاصل این فرآیند، تسریع و افزایش رشد و فعالیت ریزجانداران هوازی خاک و در نهایت تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک است (۶). گیاه‌پالایی نیز 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 می‌شود (۳۲). 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 تخریب‌کننده آلاینده‌های نفتی شوند (۲۴).

پژوهشگران بسیاری به نقش مؤثر فرآیندهای زمین‌پالایی و گیاه‌پالایی بر کاهش غلظت آلاینده‌های آلی به ویژه آلاینده‌های نفتی اشاره داشته‌اند. برای مثال هارمسن فرآیند زمین‌پالایی را روشی مؤثر و در عین حال ساده، کم هزینه و اقتصادی جهت پالایش آلاینده‌های آلی به ویژه آلاینده‌های نفتی معرفی کرد (۱۵). مارین و همکاران ضمن اشاره به کاهش حدود ۸۰ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک طی یک دوره ۱۱ ماهه عملیات زمین‌پالایی از این فرآیند به عنوان روشی مؤثر و کم هزینه برای پالایش آلاینده‌های نفتی از خاک نام بردند (۲۷). لانگین و استین‌هارت کاهش بیشتر غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی (Total Petroleum Hydrocarbons, TPHs) در خاک طی فرآیند زمین‌پالایی نسبت به نمونه شاهد را گزارش نمودند (۲۳). سیمز و سیمز میزان و سرعت سمیت‌زدایی و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک آلوده طی فرآیند زمین‌پالایی را مستقیماً به شدت به هم‌زدن و زیورور کردن خاک آلوده مربوط دانستند (۳۷). هونگ و همکاران نیز با بررسی اثر سیستم‌های چندگانه زمین‌پالایی - گیاه‌پالایی - زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به ترکیبات هیدروکربنه چند حلقه‌ای آروماتیک (Poly Aromatic Hydrocarbons, PAHs) به مؤثرتر بودن فرآیندهای زمین‌پالایی و گیاه‌پالایی در حذف و پالایش این ترکیبات اشاره کردند (۱۸).

هاتچینسون و همکاران تجزیه TPHs در خاک در حضور مرغ‌پنجه‌ای 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 مرغ‌پنجه‌ای و فسکیو گزارش نمودند (۱۹). پالمروس و همکاران کاهش ۶۱ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در تیمار بقولات بدون کوددهی و کاهش ۷۴ و ۶۷ درصدی غلظت این آلاینده‌ها در تیمار بقولات با کوددهی حاوی عناصر فسفر، نیتروژن و پتاسیم را گزارش کردند. هم‌چنین ایشان به کاهش ۴۰ و ۹۸ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در حضور گیاهان علفی به ترتیب در تیمار بدون تلقیح میکروبی و تیمار تلقیح میکروبی پس از یک دوره

(خاک:آب) تعیین شد (جدول ۱). غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی و نیز برخی از ترکیبات هیدروکربنه چند حلقه‌ای آروماتیک در هر یک از خاک‌ها پیش از شروع دوره آزمایش نیز با عصاره‌گیری به روش سوکسله با نسبت مساوی آن-هگزان و دی کلرومتان (۱۱) و سپس قرائت به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (Gas chromatograph, GC) تعیین شد (جدول ۲).

۲. فرآیند زمین پالایی

به منظور اعمال تیمار زمین پالایی از هر یک از خاک‌های آلوده به نفت مورد مطالعه (لندفیل و کشاورزی) نمونه خاک در ظروف فلزی با حجم تقریبی 30000 cm^3 در سه تکرار ریخته شد. فرآیند زمین پالایی خاک‌های آلوده مورد بررسی طی یک دوره ۴ ماهه از ابتدای مهرماه تا انتهای دی‌ماه (۱۳۸۶) در فضای سرپاز بررسی شد. به شکلی که طی این مدت رطوبت خاک‌ها از طریق وزنی کنترل و در حد ۷٪ ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. برای این منظور آبیاری به طور میانگین ۳ بار در هفته انجام شد. پیش از هر دور آبیاری، خاک‌ها با استفاده از بیلچه به طور کامل زیرورو می‌گشتند تا عملیات هوادهی به خوبی صورت گرفته و هر بار لایه‌ای جدید از خاک در معرض نور خورشید و هوا قرار گیرد. برای هر یک از خاک‌ها تیمار شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) نیز در ۳ تکرار در نظر گرفته شد. جهت تعیین برخی از ویژگی‌های زیستی خاک‌ها و نیز تعیین غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در ابتدای دوره آزمایش و نیز در انتهای هر ماه و پیش از زیرورو نمودن و آبیاری خاک‌ها از هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد نمونه خاک گرفته شد. فعالیت آنزیم اوره‌آز و تنفس میکروبی در خاک به روش آلف (۳) و غلظت TPHs در خاک نیز به همان روش سوکسله اندازه‌گیری شد (۱۱). برخی از پارامترهای اقلیمی نظیر متوسط دمای روزانه، دمای بیشینه و کمینه و درصد ساعات آفتابی در روز برای طول دوره پژوهش نیز از ایستگاه هواشناسی موجود در محل انجام پژوهش تهیه و نتایج آن در جدول ۳ آمده است.

آزمایش ۶۰ روزه اشاره نمودند (۳۱). بسالت پور نیز کاهش حدود ۷۱ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در حضور آگروپایرون در انتهای یک دوره ۴ ماهه گیاه پالایی را گزارش نمود (۱). این پژوهش نیز با هدف بررسی امکان پالایش خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی مناطق اطراف پالایشگاه تهران به روش ترکیبی فرآیندهای زمین پالایی و گیاه پالایی و نیز بررسی اثر این فرآیندها بر برخی ویژگی‌های زیستی این خاک‌ها صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

۱. نمونه برداری خاک‌ها

جهت انجام این پژوهش از خاک‌های آلوده به نفت در دو ناحیه محل دفن پسماندها و ضایعات نفتی پالایشگاه تهران با مختصات جغرافیایی $35^{\circ} 30'$ شمالی و $51^{\circ} 26'$ شرقی (خاک لندفیل) و اراضی کشاورزی آلوده به نفت اطراف این پالایشگاه با مختصات جغرافیایی $35^{\circ} 30'$ شمالی و $51^{\circ} 27'$ شرقی (خاک کشاورزی) نمونه برداری شد. نمونه خاک‌ها پس از هواخشک شدن از سرند ۴ میلی‌متری عبور داده شدند. سپس جهت ایجاد همگنی و یک‌نواختی پراکندگی آلاینده‌های نفتی در خاک‌ها پس از تعیین رطوبت ظرفیت مزرعه خاک‌ها به روش وزنی، هر یک از خاک‌های مذکور به مدت ۲۱ روز در حد ظرفیت مزرعه آبیاری و کاملاً زیرورو و مخلوط شدند.

به منظور آشنایی با خصوصیات خاک‌های مورد مطالعه پس از عبور نمونه خاک‌ها از سرند ۲ میلی‌متری، برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها مانند بافت خاک به روش هیدرومتری، فسفر قابل جذب به روش اولسن (۳۰)، نیتروژن کل به روش کلدال (۹)، کلسیم و منیزیم به روش تیترمتری و سدیم و پتاسیم قابل جذب به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و قرائت با شعله سنج (۳۹)، درصد مواد خنثی شونده (آهک) به روش تیتراسیون با سود (۷)، غلظت قابل جذب برخی از فلزات سنگین به روش عصاره‌گیری با DTPA (۲۵) و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) و pH خاک در عصاره ۵:۱

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

خاک		ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی
کشاورزی	لندفیل	
۲۵	۲۰	رس (درصد)
۳۰	۳۸	شن (درصد)
۲۹	۲۰	درصد مواد خنثی شونده (آهک)
۷/۲	۶/۸	pH
۲/۶	۳/۷	قابلیت هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)
۱۳۲	۲۱۹	منیزیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۵۳۲	۶۲۰	کلسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۴۵	۱۲۵	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۰/۰۶	۰/۲۴	نیتروژن کل (درصد)
۳۹	۵۱	سدیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۲۳۰	۲۰۰	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۸۵	۷۱	آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۵۲	۸۱	مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۵	۱۸	روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۲۸	۴۹	منگنز (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

جدول ۲. غلظت (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کل هیدروکربن‌های نفتی و برخی از هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای خاک‌های مورد مطالعه

PAHs	خاک	
	لندفیل	کشاورزی
Naphthalene	۴۲	۱۷
Phenanthrene	۳۱	۱۵
Anthracene	۲	۰/۵
Fluoranthene	۲۶	۲۱
Pyrene	۱۸	۱۰
Benzo[k]Fluoranthene	ND	۳۲
Benzo[a]pyrene	۴۳	۳۳
Benzo[e]pyrene	۴۲	۲۱
Benzo[g,h,i]Perylene	۷	۹
2-methyl phenanthrene	۲۱	۱۱
TPHs	۱۰۸۹۶۶	۷۳۲۳۳

ND: غلظت کمتر از حد تشخیص دستگاه

جدول ۳. میانگین دمای روزانه، بیشینه و کمینه و میانگین درصد ساعات آفتابی در روز برای هر ماه از دوره پژوهش

پارامتر اقلیمی	ماه			
	اول	دوم	سوم	چهارم
میانگین دما (درجه سانتی‌گراد)	۱۸/۲	۱۳/۹	۷/۸	-۱/۲
میانگین دمای بیشینه (درجه سانتی‌گراد)	۲۵/۸	۲۱/۳	۱۴/۱	۳/۱
میانگین دمای کمینه (درجه سانتی‌گراد)	۱۰/۷	۶/۷	۲/۱	-۵/۱
میانگین ساعات آفتابی (درصد)	۱۰/۱	۸/۵	۷/۳	۵/۱

۳. فرآیند گیاه پالایی

پس از انتهای دوره ۴ ماهه فرآیند زمین پالایی خاک‌های آلوده به نفت مورد مطالعه، اثر فرآیند گیاه پالایی بر کاهش غلظت این ترکیبات از خاک طی یک دوره ۴ ماهه در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. برای این منظور از هر یک خاک‌ها در تیمارهای مختلف (زمین پالایی و شاهد بدون عملیات زمین پالایی) حدود ۳ کیلوگرم نمونه خاک در گلدان‌های با قطر دهانه ۱۵۰ و ارتفاع ۲۵۰ میلی متری ریخته و بذر (تعداد ۱۰۰ بذر سالم) آگروپایرون (*Agropyron smithii* L.) و فسکیو (*Festuca arundinacea* L.) در عمق ۱ تا ۲ سانتی‌متری سطح گلدان‌ها کشت شد. برای هر یک از خاک‌های مورد مطالعه نمونه شاهد (بدون کشت گیاه) نیز در نظر گرفته شد. هم‌چنین برای بررسی اثر حضور آلاینده‌های نفتی در خاک بر رشد و نمو گیاهان مورد مطالعه، نمونه خاک غیر آلوده که از همان مناطق اطراف پالایشگاه تهران برداشت شده بود نیز در نظر گرفته شد. در انتهای این بخش از پژوهش، نمونه خاک جهت انجام آزمایش‌های مربوطه از خاک اطراف ریشه (خاک ریزوسفری) برداشت شد. سپس ریشه و اندام هوایی گیاهان برداشت و پس از شستشو با آب مقطر در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردید. فعالیت آنزیم اوره‌آز، تنفس میکروبی و غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک نیز به همان روش‌های ذکر شده در مرحله زمین پالایی اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم افزار آماری SAS و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ای بلوک کامل تصادفی با

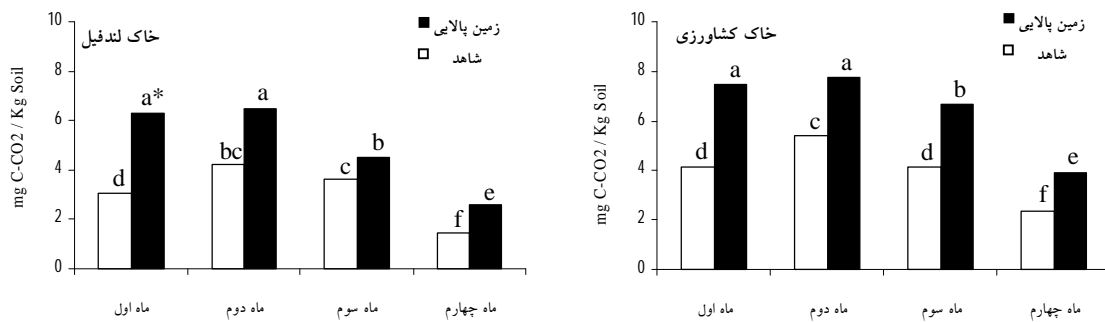
سه فاکتور خاک، زمان و تیمار پالایش (به ترتیب در ۲، ۴ و ۲ سطح) برای مطالعه زمین پالایی و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ای کامل تصادفی با سه فاکتور خاک، گیاه و تیمار پالایش (به ترتیب در ۲، ۳ و ۲ سطح) برای مطالعه گیاه پالایی استفاده شد. مقایسه آماری میانگین‌ها نیز به روش LSD انجام شد.

نتایج و بحث

۱. فرآیند زمین پالایی

الف) تنفس میکروبی در خاک

نتایج مقایسه میانگین میزان کربن تولید شده در خاک به صورت CO₂ طی فرآیند تنفس میکروبی برای دو تیمار زمین پالایی و شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) در شکل ۱ آورده شده است. اعمال تیمار زمین پالایی در هر دو خاک لندفیل و کشاورزی در انتهای هر چهار زمان دوره آزمایش موجب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد آزمون LSD) فعالیت و تنفس ریزجانداران خاک شد (شکل ۱). به نظر می‌رسد که ایجاد شرایط بهینه برای فعالیت ریزجانداران خاک طی فرآیند زمین پالایی (هوادهی، تأمین نور و رطوبت مناسب) نقش مؤثری بر افزایش فعالیت و تنفس میکروبی در خاک داشته است (۲۷). هم‌چنین افزایش حدود ۵۰، ۳۶، ۲۰ و ۴۵ درصدی تنفس میکروبی در خاک لندفیل طی فرآیند زمین پالایی به ترتیب برای ماه‌های اول تا چهارم دوره آزمایش دیده شد. برای خاک کشاورزی نیز میزان آزادسازی CO₂ طی فرآیند تنفس میکروبی در تیمار زمین



شکل ۱. میزان کربن تولید شده به صورت CO₂ طی فرآیند تنفس میکروبی در طول دوره آزمایش در تیمارهای زمین پالایی و شاهد* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

پالایی) داشت و تنها در خاک لندفیل و برای ماه چهارم، تفاوت معنی داری (در سطح ۵ درصد آزمون LSD) بین تیمار زمین پالایی و تیمار شاهد دیده نشد. این در حالی است که افزایش حدود ۱۶، ۱۴ و ۱۲ درصدی فعالیت این آنزیم به ترتیب برای ماه‌های اول تا سوم در تیمار زمین پالایی نسبت به تیمار شاهد برای این خاک حاصل شد (شکل ۲). هم‌چنین میزان نیتروژن تولید شده به شکل آمونیوم در اثر فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمار زمین پالایی در خاک کشاورزی نیز به ترتیب برای ماه‌های اول تا چهارم حدود ۲۱، ۴۵، ۲۶ و ۲۳ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود. به نظر می‌رسد که هوادمی و تأمین نور و رطوبت بهینه برای فعالیت ریزجانداران خاک طی فرآیند پالایش فیزیکی، موجب افزایش فعالیت میکروبی و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌ها در خاک نظیر آنزیم اوره‌آز در این تیمار شده است (۲۷ و ۳۴).

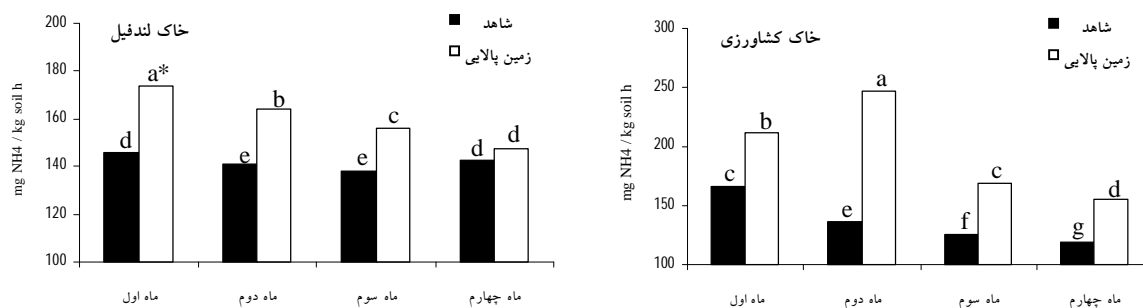
بررسی میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک طی زمان‌های مختلف دوره مطالعه نیز بیان‌گر آن است که با گذشت زمان میزان فعالیت این آنزیم در هر دو خاک به ویژه در دو ماه پایانی کاسته شده است (شکل ۲). به نظر می‌رسد که با گذشت زمان و تجزیه و تخریب شکل‌های تجزیه پذیرتر هیدروکربن‌های نفتی در خاک در تیمار زمین پالایی، فعالیت میکروبی و بنابراین فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک نیز کاهش یافته است (۲۷). از سوی دیگر محدودیت دمایی برای فعالیت ریزجانداران خاک در روزهای پایانی دوره مطالعه (جدول ۳) نیز می‌تواند عامل

پالایی به ترتیب در انتهای ماه‌های اول تا چهارم حدود ۳۹، ۳۱، ۳۸ و ۴۰ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود (شکل ۱).

از سوی دیگر میزان تنفس میکروبی در هر دو خاک لندفیل و کشاورزی در دو ماه پایانی آزمایش کمتر از دو ماه ابتدایی بود. به نظر می‌رسد که میانگین دمای پایین‌تر هوا در دو ماه پایانی به ویژه ماه چهارم نسبت به دو ماه ابتدایی دوره آزمایش (جدول ۳) و نیز تجزیه و تخریب ترکیبات نفتی با قابلیت دسترسی زیستی بالاتر و تجزیه‌پذیرتر توسط ریزجانداران خاک در همان روزهای ابتدایی دوره آزمایش، عوامل اصلی کاهش تنفس میکروبی در خاک در انتهای دوره پژوهش باشند (۱۳). ریفالدی و همکاران نیز افزایش معنی‌دار تنفس میکروبی در همه تیمارهای زیست پالایی خاک‌های آلوده به نفت را گزارش نمودند (۳۴). سایدکوی و آدامز بیان داشتند که در خاک‌هایی که در شرایط طبیعی به ترکیبات نفتی آلوده شده بودند و مدت طولانی از آلودگی آنها می‌گذشت، ریزجانداران خاک در کمتر از ۲ روز با شرایط آلودگی موجود سازگار شده و فعالیت آنها افزایش یافت (۳۶).

ب) فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک

نتایج اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز نشان داد که فرآیند زمین پالایی نقش مؤثری بر افزایش فعالیت این آنزیم در هر دو خاک مورد مطالعه نسبت به تیمار شاهد (بدون عملیات زمین



شکل ۲. میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در دو خاک لندفیل و کشاورزی در طول دوره آزمایش در تیمارهای زمین پالایی و شاهد* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

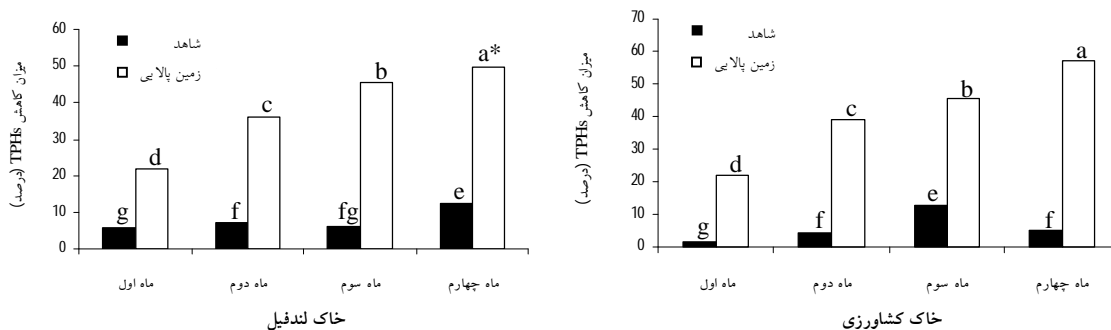
خاک لندفیل و کشاورزی در انتهای دوره دیده شد در صورتی که این کاهش برای خاک شاهد به ترتیب حدود ۱۲ و ۵ درصد بود (شکل ۳). از سوی دیگر میزان کاهش غلظت TPHs برای هر دو خاک مورد مطالعه در تیمار زمین پالایی در دو ماه ابتدایی دوره پژوهش نسبت به دو ماه انتهایی بالاتر بود و بیش از حدود ۳۶ و ۳۹ درصد از غلظت TPHs به ترتیب برای دو خاک لندفیل و کشاورزی در دو ماه اول و دوم کاهش یافت. در حالی که کمتر از ۱۳ و ۱۷ درصد از غلظت این ترکیبات آلاینده به ترتیب برای دو خاک لندفیل و کشاورزی در دو ماه پایانی پژوهش کاسته شد (شکل ۳). به نظر می‌رسد که بالاتر بودن میزان ساعات آفتابی در روز، دمای روزانه مناسب‌تر (جدول ۳) و فعالیت آنزیمی و تنفس میکروبی بیشتر (شکل‌های ۱ و ۲) در دو ماه ابتدایی دوره پژوهش نسبت به ماه‌های سوم و چهارم، عوامل اصلی کاهش بیشتر غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک طی فرآیند زمین پالایی باشند (۱۴ و ۳۴).

در پژوهش‌هایی مشابه، ریفالیدی و همکاران نیز به کاهش بیشتر غلظت TPHs در دوره ابتدایی زیست پالایی خاک‌های آلوده به نفت اشاره کردند (۳۴). مارین و همکاران مشاهده نمودند که بیش از ۵۵ درصد غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک در دو ماه ابتدایی دوره زمین پالایی کاهش یافت در حالی که از ماه سوم تا یازدهم (۸ ماه) کمتر از ۴۵ درصد از غلظت TPHs در خاک کاسته شد (۲۷). سیمز و سیمز نیز به دو مرحله‌ای بودن زمین پالایی آلاینده‌های نفتی در خاک اشاره

دیگری برای کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک با گذشت زمان باشد (۸). در همین راستا اسپیر و رس نیز به افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌ها در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی اشاره داشتند (۳۸). مارین و همکاران نیز فعالیت همه آنزیم‌های مورد مطالعه خود از جمله آنزیم اوره‌آز در تیمار زمین پالایی را بیشتر از تیمار شاهد گزارش نمودند. ایشان دلیل این امر را فعالیت میکروبی بیشتر در این تیمار نسبت به تیمار شاهد دانستند (۲۷).

ج) حذف کل هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) از خاک

شکل ۳ چگونگی تغییر غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در دو خاک لندفیل و کشاورزی در دو تیمار زمین پالایی و شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) را نشان می‌دهد. اعمال تیمار زمین پالایی در هر دو خاک سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد آزمون LSD) تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی و لذا کاهش بیشتر غلظت این ترکیبات در خاک نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۳). به نظر می‌رسد که ایجاد شرایط تهویه‌ای مناسب به سبب زیرورو نمودن خاک، تأمین رطوبت بهینه برای فعالیت ریزجانداران خاک از طریق آبیاری و قرار گرفتن لایه‌ای جدید از خاک آلوده در مجاورت نور و هوا طی فرآیند زمین پالایی، نقش مؤثری بر تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی در خاک داشته است (۲۷). به شکلی که کاهش‌های حدود ۵۰ و ۵۷ درصدی غلظت TPHs در تیمار زمین پالایی به ترتیب برای دو



شکل ۳. میزان کاهش غلظت TPHs (درصد) در دو خاک لندفیل و کشاورزی در هر ماه نسبت به شروع

دوره آزمایش در تیمارهای زمین پالایی و شاهد

* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

آلاینده‌های نفتی در خاک، سبب کاهش سرعت رشد و استقرار این گیاه گردیده و نهایتاً سمیت ایجاد شده ناشی از حضور این ترکیبات در خاک سبب از بین رفتن آن شد (۱۷).

عملکرد ماده خشک ریشه آگروپایرون در خاک لندفیل در تیمار زمین پالایی و شاهد به ترتیب حدود ۳۴ و ۵۲ درصد نسبت به خاک غیر آلوده کاهش داشت. برای خاک کشاورزی نیز کاهش عملکرد ماده خشک ریشه آگروپایرون در تیمار شاهد ۴۰ درصد بیشتر از تیمار زمین پالایی بود. عملکرد ماده خشک ریشه فسکیو در خاک لندفیل به ترتیب ۷۵ و ۸۳ درصد در تیمارهای زمین پالایی و شاهد نسبت به خاک غیر آلوده کاهش داشت (شکل ۴). بنابراین به نظر می‌رسد که به سبب حضور آلاینده‌های نفتی در خاک و ویژگی‌های آبگریزی این ترکیبات، قابلیت دسترسی رطوبت و عناصر غذایی برای ریشه این گیاهان کاهش یافته (۸) و لذا سبب محدودیت رشد و استقرار ریشه در خاک‌های آلوده شده است (۳۵). پراکنش آلاینده‌های نفتی به ویژه ترکیبات سبک‌تر در خاک نیز ممکن است بر رشد و نمو ریشه و ایجاد سمیت برای گیاهان اثر گذاشته باشد (۲۰).

از سویی رشد و تولید ماده خشک اندام هوایی گیاهان مورد مطالعه در هر دو سطح آلودگی نسبت به خاک بدون آلودگی کاهش معنی داری داشت. به شکلی که میزان ماده خشک اندام

کردند (۳۷). بالبا و همکاران کاهش حدود ۸۲ درصدی غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در خاک طی فرآیند زمین پالایی در انتهای دوره ۱۲ ماهه پژوهش خود را گزارش نمودند (۴).

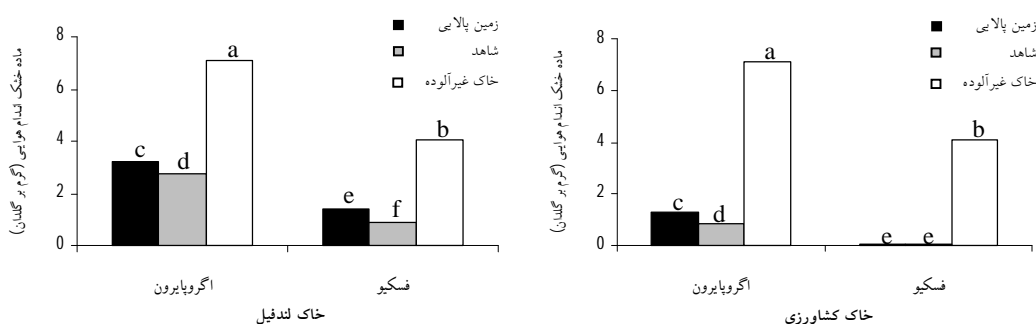
۲- فرآیند گیاه پالایی

الف) اثر آلاینده‌های نفتی بر رشد گیاهان

شکل ۴ نشان‌دهنده میزان عملکرد ماده خشک ریشه گیاهان در تیمارهای مختلف در دو خاک لندفیل و کشاورزی است. نتایج عملکرد ماده خشک اندام هوایی نیز در شکل ۵ آورده شده است. حضور آلاینده‌های نفتی در هر دو خاک و در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) موجب کاهش رشد و عملکرد ماده خشک گیاهان مورد مطالعه شد که این کاهش عملکرد در تیمار شاهد و در خاک کشاورزی به ویژه برای فسکیو قابل ملاحظه بود. پایداری آگروپایرون نسبت به فسکیو در برابر آثار سمیتی آلاینده‌های نفتی در خاک بالاتر بود به شکلی که جوانه‌های فسکیو در خاک کشاورزی در هیچ یک از تیمارهای زمین پالایی و شاهد قادر به مقاومت در برابر آثار سمی آلاینده‌های نفتی در خاک نبوده و خشک گردیدند و بنابراین فسکیو فاقد عملکرد ماده خشک گیاهی در انتهای دوره پژوهش بود (شکل‌های ۴ و ۵). به نظر می‌رسد که حضور



شکل ۴. مقایسه میانگین عملکرد ماده خشک ریشه آگروپایرون و فسکیو در تیمارهای مختلف در دو خاک لندفیل و کشاورزی



شکل ۵. مقایسه میانگین عملکرد ماده خشک اندام هوایی آگروپایرون و فسکیو در تیمارهای مختلف در دو خاک لندفیل و کشاورزی

* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

می‌رسد که در تیمار زمین پالایی که میزان غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک به علت اعمال فرآیند زمین پالایی در آن کمتر بوده است (شکل ۳)، استقرار و رشد و نمو گیاهان نسبت به تیمار شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) مناسب‌تر بود. در همین راستا چینو و همکاران نیز کاهش جذب عناصر غذایی توسط گیاه در حضور هیدروکربن‌های نفتی در خاک را عامل اصلی کاهش رشد و عملکرد ماده خشک گیاهان مورد مطالعه گزارش کردند (۱۰). هونگ و همکاران اثر غلظت‌های مختلف آلاینده‌های نفتی در خاک بر رشد و نمو گیاهان مختلف را بررسی نموده و دریافتند که در غلظت‌های بالاتر این آلاینده‌ها در خاک (۳ و ۲ گرم بر کیلوگرم) عملکرد کل ماده خشک فسکیو و بلوگراس به کمتر از ۵۰ درصد خاک بدون آلودگی کاهش یافت (۱۸).

هوایی آگروپایرون در خاک لندفیل در تیمار زمین پالایی ۵۵ درصد و در تیمار شاهد ۶۱ درصد نسبت به خاک غیر آلوده کاهش داشت. درحالی که این کاهش عملکرد ماده خشک اندام هوایی برای فسکیو به ترتیب ۶۶ و ۷۷ درصد بود. همچنین عملکرد ماده خشک اندام هوایی آگروپایرون در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد در خاک کشاورزی کاهش بیشتری نسبت به خاک لندفیل داشت (شکل ۵). همان‌گونه که ذکر شد فسکیو در خاک کشاورزی فاقد عملکرد ماده خشک گیاهی در انتهای دوره پژوهشی بود. بنابراین به نظر می‌رسد که اثر سمیتی آلاینده‌های نفتی برای گیاهان مورد مطالعه در خاک کشاورزی نسبت به خاک لندفیل بیشتر بوده و بنابراین استقرار و رشد هر دو گیاه در خاک لندفیل نسبت به خاک کشاورزی با موفقیت بیشتری همراه بود (شکل‌های ۴ و ۵). از سوی دیگر به نظر

ب) تنفس میکروبی

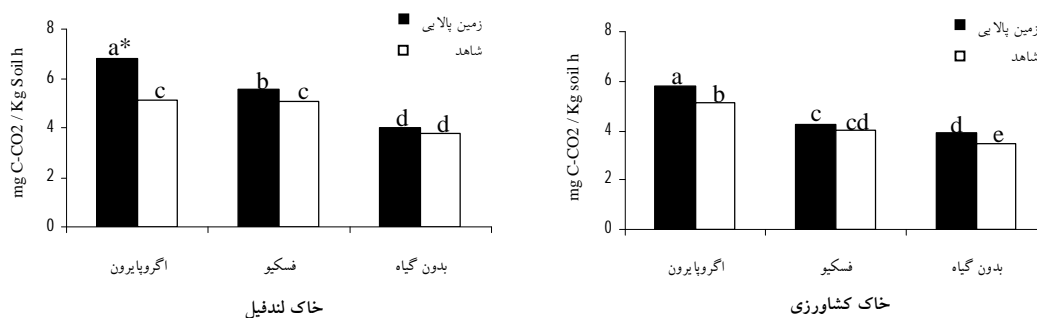
نتایج مقایسه میانگین میزان کربن تولید شده به صورت CO_2 طی فرآیند تنفس میکروبی در ریزوسفر گیاهان مورد مطالعه برای تیمارهای زمین پالایی و شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) در شکل ۶ آمده است. میزان تنفس میکروبی در خاک لندفیل در ریزوسفر آگروپایرون و فسکیو در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد بیشتر از خاک بدون گیاه بود. هم‌چنین تنفس میکروبی در ریزوسفر آگروپایرون در خاک لندفیل در تیمار زمین پالایی بیشتر از فسکیو بود. به نظر می‌رسد که آگروپایرون به سبب استقرار مناسب‌تر و تولید زیست‌توده ریشه و اندام هوایی بیشتر در این تیمار (شکل‌های ۴ و ۵)، اثر بیشتری بر فعالیت میکروبی خاک داشته است (شکل ۶). از آنجا که میزان و نوع ترشحات ریشه‌ای گیاهان مختلف و نیز نوع سیستم ریشه‌ای و میزان ماده خشک تولیدی ریشه گیاهان با یکدیگر متفاوت است، فعالیت میکروبی در ریزوسفر آنها در سطوح مختلف آلودگی نیز متفاوت است (۱۶). هم‌چنین میزان کربن تولید شده به صورت CO_2 طی فرآیند تنفس میکروبی در ریزوسفر آگروپایرون در تیمارهای زمین پالایی و شاهد به ترتیب ۴۲ و ۲۶ درصد بیشتر از خاک آلوده بدون گیاه بود. در ریزوسفر فسکیو در خاک لندفیل نیز میزان تنفس میکروبی در تیمارهای زمین پالایی و شاهد به ترتیب ۲۸ و ۲۵ درصد بیشتر از خاک بدون گیاه بود (شکل ۶). بنابراین به نظر می‌رسد که فعالیت میکروبی در ریزوسفر هر دو گیاه مورد مطالعه در خاک‌های آلوده افزایش یافته است. چراکه ریشه گیاهان علفی ترکیباتی مانند آمینو اسیدها، آنزیم‌ها و کربوهیدرات‌ها را در خاک رها می‌سازند که در رشد و افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۳۳).

در پژوهش‌هایی مشابه سایدکوی و آدامز نیز اندازه‌گیری تنفس میکروبی، میزان CO_2 آزاد شده و یا O_2 مصرف شده طی فعالیت ریزجانداران خاک را بهترین روش ارزیابی پاسخ آنها به افزوده شدن آلاینده‌های نفتی به خاک دانستند (۳۶). لایست و فلگنترو به بالاتر بودن کل جمعیت میکروبی شمارش شده در

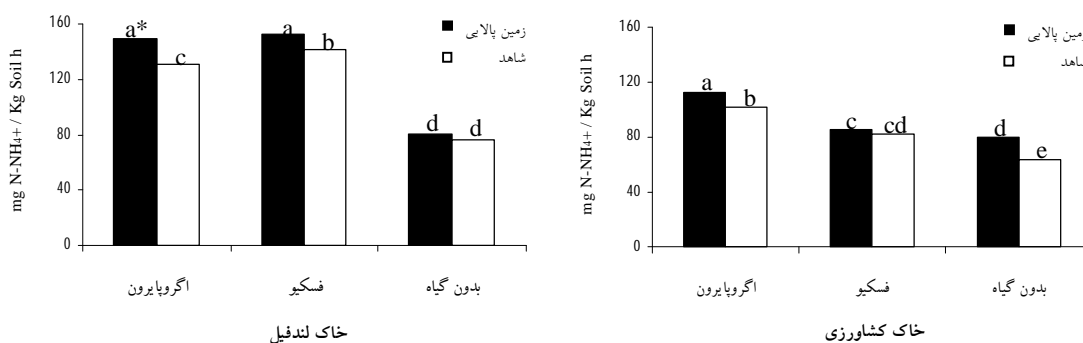
خاک‌های آلوده به نفت در حضور پوشش گیاهی در مقایسه با توده خاک اشاره کردند (۲۶). هاتچینسون و همکاران دریافتند که تعداد کلونی باکتری‌های شمارش شده در همه تیمارهای گیاهی پالایش خاک‌های آلوده به نفت بیشتر از تیمارهای بدون گیاه بود (۱۹).

ج) فعالیت آنزیم اوره آز

نیترژن تولید شده به شکل آمونیوم در اثر فعالیت آنزیم اوره آز در ریزوسفر فسکیو و آگروپایرون در هر دو خاک کشاورزی و لندفیل بیشتر از خاک بدون گیاه بود (شکل ۷). اگرچه تفاوت معنی‌داری (در سطح ۵ درصد آزمون LSD) بین میزان فعالیت این آنزیم در ریزوسفر آگروپایرون و فسکیو در تیمار زمین پالایی در خاک لندفیل دیده نشد، اما میزان نیترژن اندازه‌گیری شده به شکل آمونیوم در تیمار زمین پالایی در ریزوسفر آگروپایرون ۴۶ درصد و در ریزوسفر فسکیو ۴۷ درصد بیشتر از خاک بدون گیاه بود (شکل ۷). برای خاک کشاورزی نیز فعالیت آنزیم اوره آز در ریزوسفر آگروپایرون که نسبت به فسکیو استقرار مناسب‌تری داشت (شکل‌های ۴ و ۵) بیشتر بود. به شکلی که میزان نیترژن اندازه‌گیری شده به شکل آمونیوم در ریزوسفر آگروپایرون در تیمار زمین پالایی ۲۸ درصد و در تیمار شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) ۲۰ درصد بیشتر از خاک بدون گیاه بود (شکل ۷). به نظر می‌رسد که میزان و نوع ترشحات ریشه و بهبود شرایط فیزیکی و تهویه خاک در محیط اطراف ریشه (ریزوسفر) این گیاهان از یک سو و فراهم آوردن منبع کربن و انرژی برای فعالیت ریزجانداران خاک با افزوده شدن آلاینده‌های نفتی به خاک از سوی دیگر و سازگار شدن این ریزجانداران خاک با شرایط محیطی جدید و سپس افزایش فعالیت آنها، عوامل اصلی افزایش فعالیت آنزیمی در حضور این گیاهان در خاک‌های آلوده مورد مطالعه باشد (۳۶). کمیسر و پارک نیز ترشحات ریشه یونجه را عامل اصلی افزایش جمعیت ریزجانداران و فعالیت آنزیمی در ریزوسفر این گیاه در مقایسه با خاک بدون پوشش گیاهی دانستند (۲۲).



شکل ۶. مقایسه میانگین میزان کربن تولید شده به صورت CO₂ طی فرآیند تنفس میکروبی در ریزوسفر گیاهان مورد مطالعه و شاهد (بدون گیاه) در تیمارهای مختلف.
* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.



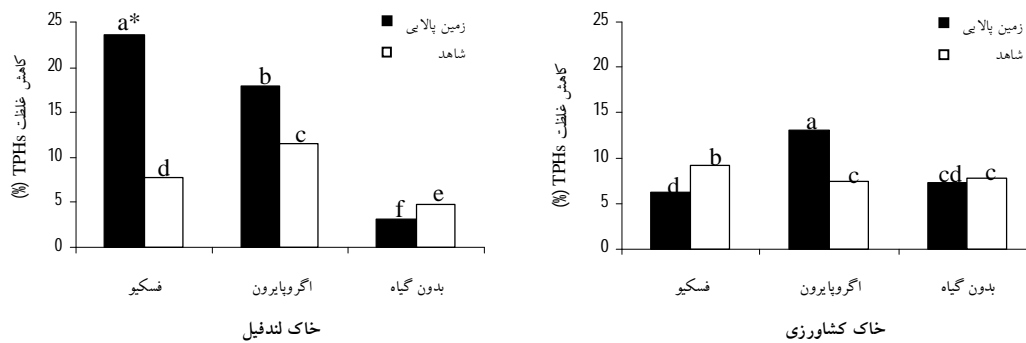
شکل ۷. مقایسه میانگین میزان نیتروژن تولید شده به شکل آمونیوم در اثر فعالیت آنزیم اوره آز در ریزوسفر گیاهان مورد مطالعه و خاک بدون گیاه در تیمارهای مختلف.
* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

خاک کشاورزی که استقرار آگروپایرون با موفقیت بیشتری همراه بود (شکل‌های ۴ و ۵)، کاهش غلظت TPHs در ریزوسفر آن بیشتر از فسکیو بود (شکل ۸). در تیمار زمین پالایی در خاک لندفیل بیش از حدود ۴۰ و ۲۰ درصد از غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی به ترتیب در حضور فسکیو و آگروپایرون نسبت به خاک بدون گیاه کاسته شد. ولی در تیمار شاهد (بدون عملیات زمین پالایی) کمتر از حدود ۷ و ۳ درصد از غلظت TPHs به ترتیب در ریزوسفر فسکیو و آگروپایرون نسبت به خاک بدون گیاه کاهش داشت (شکل ۸). به نظر می‌رسد که استقرار مناسب‌تر گیاهان مورد مطالعه در تیمار زمین پالایی نسبت به تیمار شاهد

کیمی و همکاران نیز به آثار متقابل پوشش گیاهی و فعالیت آنزیمی و میکروبی در زیست پالایی آلاینده‌های نفتی اشاره نمودند (۲۰).

د) حذف کل هیدروکربن‌های نفتی (TPHs) از خاک

شکل ۸ میزان کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در حضور گیاهان مورد مطالعه و خاک بدون گیاه در تیمارهای مختلف برای دو خاک کشاورزی و لندفیل را نشان می‌دهد. میزان کاهش غلظت TPHs در تیمار زمین پالایی در خاک لندفیل در ریزوسفر فسکیو بیشتر از آگروپایرون بود ولی در



شکل ۸. مقایسه میزان کاهش غلظت TPHs (درصد) در حضور گیاهان مختلف با خاک بدون گیاه در تیمارهای مختلف* نمودارها با حروف مشابه، فاقد تفاوت معنی دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD هستند.

را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که غلظت این آلاینده‌ها در حضور رای گراس و اگوستین گراس ۲۵ درصد بیشتر از حضور سورگوم و تیمار شاهد (بدون گیاه) کاهش یافت (۲۹). کچاورزی و همکاران به کاهش حدود ۱۶ تا ۱۹ درصدی غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در نمونه شاهد اشاره داشته و بیان نمودند که غلظت TPHs باقی‌مانده در این تیمار بالاتر از سایر تیمارهای با کشت گیاه بود (۲۱). سلیمانی نیز به نقش مؤثر گیاهان علفی در پالایش آلاینده‌های نفتی از خاک اشاره کرد (۲).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش گویای آن است که اعمال تیمار زمین پالایی در هر دو خاک لندفیل و کشاورزی و در انتهای هر چهار زمان دوره آزمایش، موجب افزایش فعالیت و تنفس ریزجانداران خاک شد. هم‌چنین فرآیند زمین پالایی، نقش مؤثری بر افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز در هر دو خاک مورد مطالعه نسبت به تیمار شاهد داشت و تنها در ماه چهارم و خاک لندفیل تفاوت معنی‌داری بین تیمار زمین پالایی و شاهد دیده نشد. اعمال تیمار زمین پالایی در هر دو خاک سبب افزایش معنی‌دار تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی و بنابراین کاهش بیشتر غلظت این ترکیبات در خاک نسبت به تیمار شاهد شد که میزان کاهش غلظت TPHs در تیمار زمین پالایی در دو ماه ابتدایی دوره

از یک‌سو (شکل‌های ۴ و ۵) و فعالیت و تنفس میکروبی بیشتر در ریزوسفر این گیاهان در تیمار زمین پالایی نسبت به تیمار شاهد (شکل‌های ۶ و ۷) از سوی دیگر، عوامل اصلی کاهش بیشتر غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک در تیمار زمین پالایی نسبت به تیمار شاهد باشند. چراکه فعالیت میکروبی بالاتر در حضور پوشش گیاهی، عامل اصلی تجزیه و تخریب بیشتر و سریع‌تر ترکیبات هیدروکربن نسبت به نمونه شاهد است (۲۲). در همین ارتباط مرکل و همکاران نیز بیان کردند که کاهش عملکرد ماده خشک گیاه به ویژه ریشه، مستقیماً روی خصوصیات ریزوسفر گیاه به ویژه تحریک ریزجانداران خاک اثر گذاشته و سبب کاهش فعالیت ریزجانداران تجزیه‌کننده نفت در خاک می‌شود (۲۸).

در خاک کشاورزی نیز میزان کاهش غلظت TPHs در ریزوسفر اگروپاپرون در تیمار زمین پالایی ۷ درصد بیشتر از خاک بدون گیاه بود ولی تفاوت معنی‌داری مبنی بر اثر حضور این گیاه بر کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی از خاک در تیمار شاهد با خاک بدون گیاه دیده نشد. برای فسکیو نیز که قادر به مقاومت در برابر حضور ترکیبات نفتی در خاک و رشد در این خاک نبود (شکل‌های ۴ و ۵) تفاوت قابل ملاحظه‌ای مبنی بر کاهش معنی‌دار غلظت TPHs نسبت به خاک بدون گیاه حاصل نشد (شکل ۸). در پژوهش‌هایی مشابه نندیوری و همکاران نیز اثر حضور گیاه بر کاهش غلظت TPHs طی فرآیند گیاه پالایی

آنزیم در ریزوسفر آگروپایرون و فسکیو در تیمار زمین پالایی در خاک لندفیل مشاهده نشد. میزان کاهش غلظت TPHs در تیمار زمین پالایی در خاک لندفیل در حضور فسکیو بیشتر از آگروپایرون بود در حالی که در خاک کشاورزی میزان کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی در ریزوسفر آگروپایرون بیشتر از فسکیو بود. بنابراین به نظر می‌رسد که اعمال تیمار زمین پالایی پیش از فرآیند گیاه پالایی نقش مؤثری بر کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک و نیز استقرار مناسب‌تر گیاهان و امکان بیشتر کسب موفقیت در گیاه پالایی ترکیبات نفتی از خاک داشته باشد.

پژوهش نسبت به دو ماه انتهایی بالاتر بود. در مطالعه گیاه پالایی، حضور آلاینده‌های نفتی در هر دو خاک و در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد موجب کاهش رشد و عملکرد ماده خشک گیاهان مورد مطالعه شد که این کاهش عملکرد ماده خشک گیاهی در تیمار شاهد و در خاک کشاورزی به ویژه برای فسکیو قابل ملاحظه بود. میزان تنفس میکروبی در خاک لندفیل در ریزوسفر آگروپایرون و فسکیو در هر دو تیمار زمین پالایی و شاهد بیشتر از خاک بدون گیاه بود. هم‌چنین فعالیت آنزیم اوره آز در ریزوسفر فسکیو و آگروپایرون بیشتر از خاک بدون گیاه بود اما تفاوت معنی‌دار آماری بین میزان فعالیت این

منابع مورد استفاده

۱. بسالت پور، ا. ۱۳۸۶. زیست پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به روش Phytostimulation. پایان‌نامه کارشناسی ارشد خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. سلیمانی امین آبادی، م. ۱۳۸۲. پالایش خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی و فلزات سنگین سرب و نیکل به وسیله گیاهان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
3. Alef, K. 1995. Soil respiration. PP. 214-216. *In*: Alef, K. and Nannipieri, P. (Eds.), *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. chapter 7. Harcourt Brace & Company Pub., London.
4. Balba, M. T., R. Al-Daher and N. Al-Awadhi. 1998. Bioremediation of oil-contaminated desert soil: The Kuwaiti experience. *Environ. Intl.* 24: 163-173.
5. Besalatpour, A., A. H. Khoshgoftarmanesh, M. A. Hajabbasi and M. Afyuni. 2008. Germination and growth of selected plants in a petroleum contaminated calcareous soil. *Soil Sediment Contam.* 17(6): 665-676.
6. Besalatpour, A., M. A. Hajabbasi, A. H. Khoshgoftarmanesh and V. Dorostkar. 2011. Landfarming process effects on some biological and chemical properties of petroleum-contaminated soils. *Soil Sediment Contam.* 20(1). (In Press).
7. Black, C. A., D. D. Evans, J. L. White, L. E. Ensminger and F. E. Clark. 1965. *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, WI.
8. Bossert, I. and R. Bartha. 1984. The fate of petroleum in soil ecosystems. PP. 435-473. *In*: R.M. Atlas (Eds.), *Petroleum Microbiology*, MacMillan Pub., New York.
9. Bremner, J. M. and C. S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-total. PP. 595-624. *In*: Page, A.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, WI.
10. Chaineau, C. H., J. L. Morel and J. Oudot. 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *J. Environ. Qual.* 26: 1478-1483.
11. Christopher, S., P. Hein, J. Marsden and A. S. Shurleff. 1988. Evaluation of methods 3540 (soxhlet) and 3550 (Sonication) for evaluation of appendix IX analyses from solid samples. S-CUBED, Report for EPA contract 68-03-33-75, work assignment No.03, Document No. SSS-R-88-9436.
12. Cupers, C., T. Pancras, T. Grotenhuis and W. Rulkens. 2002. The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl-B-cyclodextrin and triton x-100 extraction techniques. *Chemosphere.* 46: 1235-1245.
13. Davidson, E. A., E. Belk and R. D. Boone. 1998. Soil and water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. *Global Change Biol.* 4: 217-228.
14. Dibble, J. T. and R. Bartha. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 729-739.

15. Harmsen, J. 1991. Possibilities and limitations of landfarming for cleaning contaminated soils. PP. 255–272. *In*: Olfenbittel, R.F.H. (Ed.), On-site bioremediation Process for Xenobiotic and Hydrocarbons treatment. Butterworth-Hetmann, Stoneham, MA,
16. Hou, F. S. L., M. W. Milke, D. W. M. Leung and D. J. MacPherson. 2001. Variations in phytoremediation performance with diesel-contaminated soil. *Environ. Technol.* 22: 215-222.
17. Hrudey, S. E. and S. J. Pollard. 1993. The challenge of contaminates sites: remediation approaches in North America. *Environ. Rev.* 1: 55-72.
18. 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.
19. Hutchinson, S. L., M. K. Banks and A. P. Schwab. 2001. Bioremediation and Biodegradation. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effect of inorganic fertilizer. *Environ. Qual.* 30: 395-403.
20. Kaimi, E., T. Mukaidani, S. Miyoshi and M. Tamaki. 2006. Ryegrass enhancement of biodegradation in diesel-contaminated soil. *Environ. Experim. Bot.* 55: 110-119.
21. Kechavarzi, C., Y. Karin, H. Leeds, R. Laurie and L. Stig. 2007. Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers. *Environ. Pollut.* 145: 68-74.
22. Komisar, S. J. and J. Park. 1997. Phytoremediation of diesel contaminated soil using alfalfa. Fourth International in Situ and on site Bioremediation Symposium. April 28-may 1, 1997, New Orleans, LA, 3: 331-36.
23. Langbehn, A. and H. Steinhart. 1995. Biodegradation studies of hydrocarbons in soil by analyzing metabolites formed. *Chemosphere* 30: 855–867.
24. Li, C. H., B. L. Ma and T. O. Zhang. 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. *Plant Sci.* 82: 147-154.
25. Lindsay, W. L. and W. A. Norvell. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Am. Soil Sci. Soc. J.* 42: 421-428.
26. Liste, H. H. and D. Felgentreu. 2005. Crop growth culturable bacteria and degradation of petrol hydrocarbons (PHCs) in a long term contaminated field soil. *Appl. Soil Technol.* 31: 43-52.
27. 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.
28. Merkl, N., R. S. Kraft and C. Infant. 2004. Phytoremediation of petroleum- contaminated soils in the tropics – Preliminary assessment of the potential of species from eastern Venezuela. *Appl. Bot. Food Qual.* 78(3):185–192.
29. Nedunuri, K. V., R. S. Govindaraju, M. K. Banks, A. P. Schwab and Z. Chen. 2000. Evaluation of phytoremediation for field scale degradation of total petroleum hydrocarbons. *Environ. Eng.* 126(6): 483-490.
30. Olsen, S. R. and L. E. Sommers. 1982. Phosphorus. PP. 403-431. *In*: A.L. Page (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
31. Palmroth, M. R. T., J. Pichtel and J. A. Puhakka. 2002. Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. *Bioresource Technol.* 84: 221-28.
32. Pulford, I. D. and C. Watson. 2003. Phytoremediation of heavy metal contaminated land by tree- a review. *Environ. Intl.* 29: 529-40.
33. Reilley, R. G., J. M. Zachara and F. J. Wobber. 1992. Chemical contaminants on DOE lands and selection of contaminated mixtures for subsurface science research. US-DOE off, Energy Res. Subsur. Sci. Prog., Washington DC.
34. Riffaldi, R., R. Levi-Minzi, R. Cardelli, S. Palumbo and A. Saviozzi. 2006. Soil biological activity in monitoring the bioremediation of diesel oil-contaminated soil. *Water Air Soil Pollut.* 170: 3-15.
35. Schnoor, J. L. 1997. Phytoremediation. The University of Iowa, Dep. Civil and Environ. Engineering and Center for Global and Regional Environ. Research. [On line]: www.gwrtac.org.
36. Siddiqui, S. and W. A. Adams. 2001. The fate of diesel hydrocarbons in soils and their effect on the germination of Perennial Ryegrass. *Environ. Pollut.* 118: 49-62.
37. 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.
38. Speir, T. W. and D. J. Ross. 2002. Hydrolytic enzyme activities to assess soil degradation and recovery. *Enzymes in the Environment. Activity, Ecology and Applications*. PP. 407–433. *In*: Burns, R.G. and R.P. Dick (Eds.). Marcel Dekker, New York.
39. Thomas, G.W. 1996. Exchangeable cations. *In*: Page A.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, WI.