



علوم محیطی 13 ، پاییز 1385  
ENVIRONMENTAL SCIENCES 13 , Autumn 2006  
33-40

## تاثیر مخلوط دو گیاه یونجه (*Medicago sativa*) و فسکیو (*Festuca arundinacea*) در گیاه پالایی خاک آلوده به نفت خام سبک

ملک حسین شهریار

دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی آب و خاک، پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران

غلامرضا ثواقبی فیروزآبادی

دکترای تغذیه گیاه - آلودگی خاک ، دانشیار دانشکده مهندسی آب و خاک، پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران

داریوش مینایی تهرانی

دکترای بیوشیمی، استادیار دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهیدبهشتی

مونا پدیداران

دانشجوی کارشناسی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید بهشتی

### The Effect of Mixed Plants Alfalfa (*Medicago sativa*) and Fescue (*Festuca arundinacea*) on the Phytoremediation of Light Crude Oil in Soil

Malek Hossein Shahriari

M. Sc. Student in Soil Science Engineering Agriculture and Natural Resources Campus, University of Tehran, Karaj

Gholamreza Savaghebi-Firrozabadi, Ph. D.

Associate Professor, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

Dariush Minali-Tehrani, Ph. D.

Assistant professor, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University

Mona Padidarani

B. Sc. Student in Biology Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University

#### Abstract

Crude oil is one of the most important pollutants of the soil in the southern part of Iran. Crude oil can leak into the soil during extraction purification or transportation. The soil contamination could damage the organisms of the soil, including plants and microorganisms. Some plants and microorganisms are able to degrade the the oil in the soil. Two types of plants including legumes and grasses have higher potential to be used for phytoremediation. In the present study, the effect of mixed plant, alfalfa (*Medicago sativa*) and fescue (*Festuca arundinacea*), on phytoremediation of different concentrations of light crude oil (0-10%) in soil during 120 days was studied. Total bacterial count was higher in a vegetated sample with 7% crude oil. The oil degrading bacteria was higher than non-vegetated samples. In vegetated samples, the higher crude oil reduction was observed in sample with 1% crude oil (36.7), while the lower reduction was observed in sample with 10% crude oil (5.6). The total biomass was higher in control sample (9.6g), while it was lower in 10% sample (0.24 g). Our results showed that phytoremediation with mixed plants were not efficient in contaminated soil with more than 5% crude oil.

Keywords: Phytoremediation, Crude oil, Microorganisms, Soil.

#### چکیده

در جنوب ایران نفت یکی از آلوده کننده‌های مهم خاک به‌شمار می‌آید. آلوده شدن خاک به نفت خام به هنگام استخراج، انتقال و پالایش آن رخ می‌دهد. آلودگی می‌تواند سبب آسیب به محیط و جمعیت گیاهی و جانوری خاک شود. استفاده از گیاهان و ریز موجودات (میکروارگانیزم‌ها) می‌تواند به عنوان روش‌های مناسبی جهت کاهش آلودگی نفتی باشد. در این مطالعه تأثیر مخلوط گیاه یونجه که جزو بقولات (لگوم‌ها) می‌باشد و فسکیو که از علف‌های چمنی (گراس‌ها) است بر خاک آلوده به غلظت‌های مختلف نفت خام (1، 3، 5، 7 و 10 درصد) برای مدت 120 روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، در غلظت بالای نفت تا 5 درصد، تعداد کل باکتری‌ها نسبت به شاهد و غلظت‌های پایین نفت افزایش یافت ولی بین غلظت‌های 5، 7 و 10 درصد از این نظر اختلاف معنی‌داری دیده نشد. شمارش تعداد باکتری‌های نفت خوار خاک نیز نشان داد که بیشترین تعداد باکتری‌های نفت خوار در خاک با آلودگی 10 درصد دیده شد. مقایسه کاهش نفت خام در نمونه‌های خاک دارای گیاه و غلظت متناظر آنها در نمونه‌های فاقد گیاه نشان داد که در نمونه‌های دارای گیاه، کاهش نفت خام بیشتر بود. بررسی مقدار کاهش نفت خام در خاک دارای گیاه نشان داد که بیشترین مقدار کاهش در نمونه 1 درصد نفت خام بود که کاهش در حدود 36/7 درصد بود، در حالی که کمترین مقدار کاهش نفت، در نمونه 10 درصد به میزان 5/6 درصد بود. مقدار زیست توده (بیوماس) خشک در نمونه شاهد در حدود 9/6 گرم محاسبه شد که بیش از نمونه‌های دیگر بود. کمترین زیست توده در غلظت 10 درصد به مقدار 0/24 گرم دیده شد. با وجودی که گیاه پالایی یک روش مناسب برای کاهش نفت خام خاک است ولی بررسی‌های انجام شده نشان داد که در غلظت‌های بالاتر از 5 درصد در خاک، عملاً روش گیاه پالایی فاقد بازدهی مناسب است.

کلیدواژه‌ها: گیاه پالایی، نفت خام، ریز موجودات، خاک.

## مقدمه

دی اکسید کربن و آب می کنند که به طور کلی در محیط ، دارای سمیت کمتری از مواد اولیه خود هستند. در گیاه پالایی انتخاب نوع گیاه از اهمیت خاصی برخوردار است. گیاهان متنوعی بخاطر توانمندی بالا در تسهیل گیاه پالایی مناطق آلوده مورد توجه قرار گرفته اند (Gunther *et al.*, 1996; Aprill and Sims, 1990; Reilley *et al.*, 1996). در اکثر مطالعات علفهای چمنی و بقولات در کاهش آلودگی ها بیش از دیگر گیاهان مورد توجه بوده اند. علفهای چمنی جزء گونه های گیاهی هستند که سیستم ریشه ای گسترده با سطح جذب وسیع آب و عناصر غذایی دارند (Aprill and Sims, 1990). این ریشه گسترده سبب می شود که منطقه ریشه سپهر (ریزوسفری) در خاک افزایش یافته که نتیجه آن افزایش جمعیت میکروبی در ناحیه ریشه سپهر است. در نتیجه همکاری ریشه گسترده علف های چمنی و جمعیت میکروبی، بازدهی خوبی در حذف آلودگی نفتی خاک دارد. بقولات نیز به خاطر قابلیت تثبیت نیتروژن خاک، گونه های مناسبی برای گیاه پالایی می باشند. در این گیاهان رقابتی بین گیاه با جمعیت میکروبی برای بدست آوردن نیتروژن خاک صورت نگرفته که نتیجه آن همکاری مناسبی بین باکتری ها و گیاه در جهت حذف و کاهش آلودگی نفتی خاک است (Gudin and Syrratt, 1975). زمانی که گیاهان به صورت مخلوطی از چند گونه گیاهی رشد می کنند برهم کنش بین ریشه ها موجب تغییر فیزیولوژی ریشه ای، ویژگی های ساختاری ریشه و خصوصیات ریشه سپهر می شود که نتیجه آن افزایش بازدهی کاهش آلودگی است (Kirk *et al.*, 2005). در این مطالعه تأثیر کشت مخلوط فسکیو (*Festuca arundinaceu*) که از علف های چمنی و یونجه (*Medicago sativa*) که از بقولات است بر کاهش آلودگی نفت خام سبک در خاک و جمعیت میکروبی آن مورد مطالعه قرار گرفت.

ایران یکی از کشورهای نفت خیز جهان است که هر سال مقدار زیادی نفت از نقاط جنوبی آن استخراج و در مناطق دیگر پالایش می شود. رها شدن نفت در خاک به هنگام استخراج، حمل و پالایش سبب آلودگی خاک و در نتیجه محیط زیست می شود. آلودگی نفتی سبب از بین رفتن پوشش و تنوع گیاهی و جانوری خاک می شود. از طرف دیگر گسترش آلودگی و انتقال آن از طریق شستشو با آب باران موجب آلوده شدن مناطق کشاورزی و آب های زیرزمینی می گردد. حذف آلودگی های نفتی از خاک همواره از مهم ترین مسائل سازمان محیط زیست کشور است. برای کاهش آلودگی های نفتی از خاک روش های شیمیایی، فیزیکی و زیستی پیشنهاد می شود. روش های فیزیکی و شیمیایی از روش های پر هزینه و گران بوده که معمولاً برای خاک هایی که آلودگی شدید دارند پیشنهاد می شوند، در حالیکه روش زیستی از روش های ارزان و مناسب برای کاهش آلودگی های نفتی خاک است. در میان روش های زیستی، استفاده از باکتری ها در حذف آلودگی بازدهی بسیار خوبی دارد و مورد مطالعه فراوان قرار گرفته است (Atlam, 1981; Bragg *et al.*, 1994; Cerniglia, 1992; Leahy and Colwell, 1990). روش دیگر استفاده از گیاهان است که به گیاه پالایی موسوم است. گیاه پالایی فناوری مبتنی بر تلفیق فعالیت گیاهان و جامعه میکروبی همراه آن برای تجزیه، انتقال، غیرفعال کردن و ساکن سازی (ایموبیلیزه کردن) ترکیبات آلاینده خاک و آب های زیرزمینی است (Cunningham *et al.*, 1996). در فناوری گیاه پالایی، ریشه گیاهان اثر تحریکی بر فعالیتهای میکروبی دارد که سبب میشود شرایط و محیط مناسب برای رشد و تکثیر جمعیت میکروبی فراهم شود که نتیجه آن کاهش بیشتر آلاینده نفتی از خاک است (Gunther *et al.*, 1996). گیاهان و ریزموجودات مستقیم و غیر مستقیم در تجزیه هیدروکربن های نفتی در گیرند و تولید الکل ها، اسیدها،

## مواد و روش‌ها

### خصوصیات خاک

خاک غیر آلوده از منطقه سرکان در غرب ایران به آزمایشگاه منتقل و در دمای آزمایشگاه خشک گردید. خاک توسط الک 4 میلی‌متر سرنده شد و آزمایشات زیر در آزمایشگاه خاک شناسی گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران انجام شد. pH عصاره اشباع خاک با استفاده از pH متر، قابلیت هدایت الکتریکی (EC) خاک توسط دستگاه اندازه گیری هدایت الکتریکی، مقدار آهک آن به روش حجم سنجی، میزان گچ به روش استون، مقدار پتاسیم به روش استات آمونیم، مقدار نیتروژن خاک به روش کج‌دال، فسفر خاک به روش اولسن، مقدار عناصر ضروری شامل آهن، منگنز، روی و مس با استفاده از عصاره گیر DTPA مشخص شد. میزان مواد آلی خاک با استفاده از روش والکلی بلک و تعیین بافت خاک با استفاده از روش هیدرومتری انجام شد (Robertson *et al.*, 1999) نتایج به دست آمده از تجزیه خاک در جدول 1 نشان داده شده است.

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک سرکان

مقدار	خصوصیت
16	شن (درصد)
30	سیلت (درصد)
54	رس (درصد)
5/3	(دسی زمینس بر متر) (EC)
31	کربنات کلسیم معادل (درصد)
0/86	کربن آلی (درصد)
21	ظرفیت تبادل کاتیونی (سانتی مول بار بر کیلوگرم)
0/005	نیتروژن (درصد)
12	فسفر قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم)
200	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم)
10/6	اهن قابل استخراج با DTPA (میلی گرم بر کیلوگرم)
2/3	روی قابل استخراج با DTPA (میلی گرم بر کیلوگرم)
1/4	منگنز قابل استخراج با DTPA (میلی گرم بر کیلوگرم)
1/72	مس قابل استخراج با DTPA (میلی گرم بر کیلوگرم)
7/5	pH
25	Field Capacity (F.C)

## آلوده کردن خاک به نفت خام سبک

نفت خام سبک از کارخانه پردازش نفت خام سرکان تهیه شد. دو نوع نفت خام سبک و سنگین از چاه‌های نفت ایران استخراج می‌شود. تفاوت نفت خام سبک و سنگین در آن است که در نفت سبک مقدار ترکیبات فرار و برش‌های آلیفاتیک و آروماتیک نسبت به نفت سنگین بیشتر بوده در حالیکه مقدار آسفالتین و رزین آن کمتر از نفت سنگین است. خاک غیر آلوده با درصدهای مختلف نفت خام سبک به مقدار 1، 3، 5، 7 و 10 درصد آلوده شد. در این آزمایش گلدان‌هایی با ظرفیت یک کیلوگرمی در نظر گرفته شد که با 800 گرم خاک پر گردید تیمار غیر آلوده نیز در نظر گرفته شد. از هر نمونه سه تکرار تهیه شد. 10 بذر یونجه همراه با 15 بذر فسکیو پابلند در تیمار مخلوط کشت گردید. خاک بدون گیاه نیز در تمام تیمارهای نفت خام در نظر گرفته شد. با توجه به تجزیه خاک از لحاظ میزان نیتروژن و فسفر در خاک، منابع نیترات آمونیم و فسفات پتاسیم به مقدار لازم به خاک اضافه شد. به ازای هر گرم نفت در خاک مقدار 100 میلی گرم نیترات آمونیم و 30 میلی گرم فسفات پتاسیم اضافه شد (Rosenberg and Ron, 1996). با توجه به درصد رطوبت مزرعه ای (Field capacity = F.C) خاک، رطوبت خاک در حدود 70 تا 90 درصد F.C در طول آزمایش نگهداری شد. این عمل با آبیاری گلدان‌ها به صورت یک روز در میان با آب معمولی انجام شد.

## شمارش باکتری‌های خاک

برای شمارش کل باکتری‌های هتروتروف خاک از روش درون پلیتسی (*pure-plate*) استفاده گردید (Cappuccino and Sherman, 1996). برای کشت از محیط جامد نوترینت آگار که با مقدار 0/5 درصد گلوکز غنی شده بود استفاده شد. برای شمارش باکتری‌های نفت خوار خاک نیز از روش درون پلیتسی

استفاده شد با این تفاوت که محیط کشت شامل آگار - آگار بود که مقدار 1 در صد نفت خام سبک به عنوان تنها منبع کربن به آن اضافه شد (Kirk et al., 2005).

### استخراج مواد نفتی از خاک

استخراج مواد نفتی از خاک آلوده در زمان‌های صفر (شروع کاشت)، 30، 60 و 120 روز پس از شروع آزمایش انجام گرفت. برای جدا سازی به مقدار 1 گرم خاک، 10 میلی لیتر حلال دی کلرومتان اضافه شد. مخلوط به شدت تکان داده شد تا نفت موجود در خاک توسط حلال جدا شود. سپس مخلوط سانتریفوژ گردید تا خاک از حلال جدا شود. فاز حلال از خاک جدا شد، به ظرفی که از قبل وزن شده بود منتقل و اجازه داده شد که حلال در مجاورت هوا به مدت 24 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 بود. مقدار نفت استخراج شده از هر نمونه با مقدار نفت خاک در زمان صفر مقایسه و کاهش آن به صورت در صد کاهش مشخص شد (Minai-Tehrani et al., 2006).

### اندازه گیری زیست توده گیاهی

در پایان آزمایش گیاهان از خاک خارج و با آب شستشو شدند تا خاک از ریشه جدا گردد. سپس شستشوی مجدد با آب مقطر انجام شد. وزن تر گیاهان هر گلدان ثبت گردید. به منظور اندازه گیری وزن خشک، گیاه به مدت 48 ساعت در دمای 70 درجه سلیسیوس آون نگهداری و وزن خشک کل اندام‌های گیاهی، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی ثبت گردید.

### نتایج

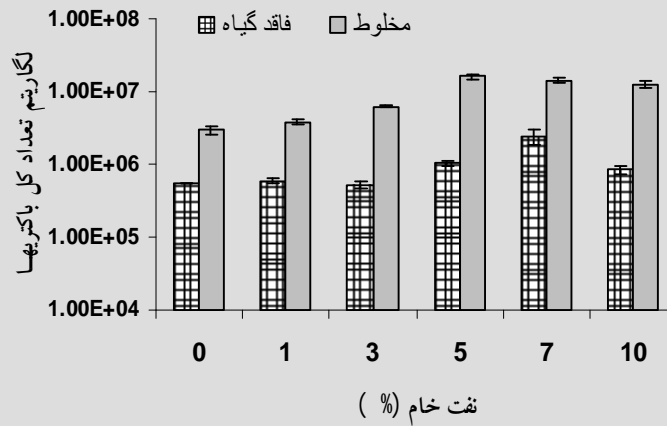
#### جمعیت میکروبی خاک

شمارش ریز موجودات در نمونه‌های دارای گیاه و مقایسه آن با خاک بدون گیاه نشان داد که جمعیت ریز

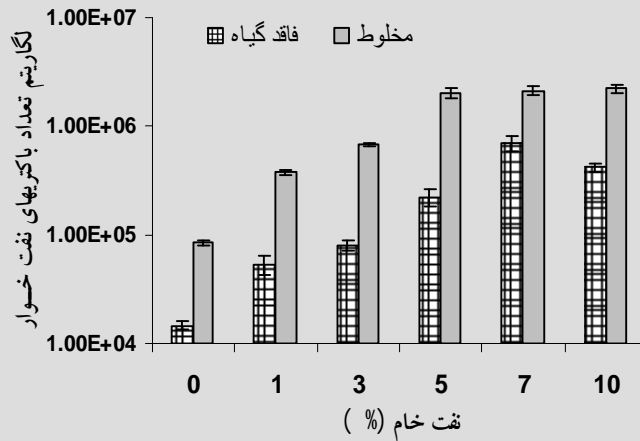
موجودات در خاک فاقد گیاه همواره کمتر از جمعیت میکروبی خاک دارای گیاه است (شکل 1) مقایسه نمونه‌های دارای گیاه نشان داد که بیشترین تعداد ریز موجودات در خاک با مقدار 7 در صد نفت خام دیده شده و به دنبال آن خاک با مقدار نفت 5 و 10 درصد دیده شد. کاهش مقدار نفت در خاک با کاهش تعداد ریز موجودات همراه بود، به طوری که در نمونه شاهد کمترین تعداد باکتریها ثبت شد (شکل 1). شمارش جمعیت باکتری‌های تجزیه کننده نفت در خاک نیز نشان داد که همواره در نمونه‌های دارای گیاه تعداد باکتری‌های تجزیه کننده نفت بیش از تعداد آنها در نمونه‌های فاقد گیاه بود (شکل 2). همچنین بیشترین تعداد باکتری‌های تجزیه کننده نفت در نمونه‌های دارای گیاه و در نمونه 10 در صد و به دنبال آن در نمونه‌های 7 و 5 در صد نفت خام و کمترین آن در نمونه شاهد مشاهده شد (شکل 2). با افزایش غلظت نفت در خاک بر تعداد جمعیت ریز موجوداتی نفت خوار خاک نیز افزوده شد. در نمونه‌های فاقد گیاه افزایش غلظت نفت تا میزان 7 در صد با افزایش باکتری‌های نفت خوار همراه بود. کاهش اندکی در تعداد باکتری‌های نفت خوار در غلظت 10 در صد نسبت به 7 در صد دیده شد.

#### تأثیر حضور درصد‌های مختلف نفت خام بر زیست توده گیاهی

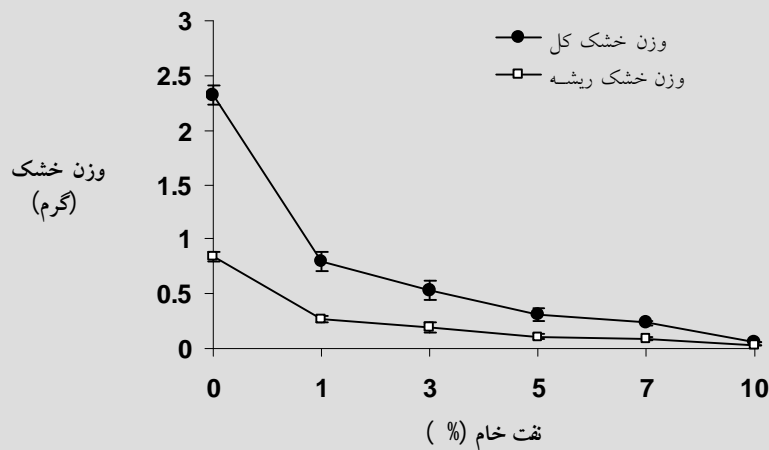
وزن خشک زیست توده کل و وزن خشک ریشه مخلوط یونجه و فسکیو پا بلند در پایان 120 روز دوره آزمایش اندازه گیری شد. شکل 3 نشان می‌دهد که با افزایش غلظت آلودگی در خاک از مقدار زیست توده کل و ریشه گیاهان کاسته شده است. بیشترین مقدار زیست توده در تیمار شاهد و کمترین آن در نمونه 10 در صد مشاهده شد. کاهش شدیدی در مقدار زیست توده در نمونه 1 در صد در مقایسه با شاهد مشاهده شد (شکل 3) که این کاهش هم در اندام هوایی و هم در



شکل 1- تعداد کل باکتریهای خاک (CFU/g soil) در غلظت‌های 1 تا 10 درصد نفت خام سبک.  
Colony Forming Unit (CFU)



شکل 2- تعداد باکتری‌های تجزیه کننده نفت (CFU/g soil) در خاک آلوده به نفت



شکل 3- مقدار وزن خشک کل (ریشه + اندام هوایی) و وزن خشک ریشه در غلظت‌های مختلف نفت خام سبک

تأثیر ریشه گیاه را در افزایش توده میکروبی تأیید کرده است (Gunther et al., 1996; Anderson et al., 1993). افزایش تعداد باکتری‌ها در نمونه‌هایی که غلظت بالای از نفت در خاک را داشتند نشان می‌دهد که باکتری‌ها توانسته‌اند غلظت‌های بالای نفت خام را تحمل کنند. یکی از دلایل تحمل غلظت بالا نفت توسط باکتری‌ها را می‌توان حضور ریشه گیاه در خاک دانست که محیط مناسبی را برای رشد آنها مهیا کرده است. جوانه زدن هر دو گیاه در غلظت‌های بالای نفت (7 و 10 درصد) نشان داد که این گیاهان توانسته‌اند غلظت بالای نفت را در خاک تحمل کنند. منظور از تحمل این نیست که گیاه دست‌خوش تغییر نشده است بلکه گویای آن است که مواد سمی موجود در خاک نتوانسته‌اند بر دانه گیاه تأثیر مستقیم گذاشته و مانع از جوانه زدن آن شوند. پژوهشگران جوانه زنی گیاه را تا غلظت 5/5 در صد گزارش کرده اند (Xu and Johnson, 1995).

مشاهده تغییراتی که مخلوط یونجه و فسکیو پا بلند در خاک آلوده به نفت خام سبک متحمل شدند نشان دهنده آن است که ترکیبات سمی موجود در نفت خام سبک توانسته است رشد هر دو گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. هر چه بر غلظت نفت در خاک افزوده شد تأثیر وارده به گیاه بیشتر شده است. علاوه بر این کاهش قابل ملاحظه زیست توده گیاهی بین خاک غیر آلوده و خاک آلوده بر سمیت بالای نفت خام برای رشد گیاهان حتی به میزان اولیه 1 درصد دلالت داشت. تأثیر حضور نفت خام در خاک بر رشد ریشه گیاه کاملاً مشخص بود به طوری که پراکندگی ریشه در خاک آلوده نسبت به شاهد کاهش نشان داد و این کاهش در غلظت 10 و 7 در صد نفت بسیار مشهود بود. افزایش غلظت آلاینده‌ها در خاک سبب کاهش تجزیه زیستی نفت هم در نمونه‌های دارای گیاه و هم در نمونه‌های بدون گیاه در خاک شد. با آنکه تعداد باکتری‌ها در خاک‌هایی با غلظت بالاتر نفت خام بیشتر از غلظت‌های کمتر نفت خام بود ولی این

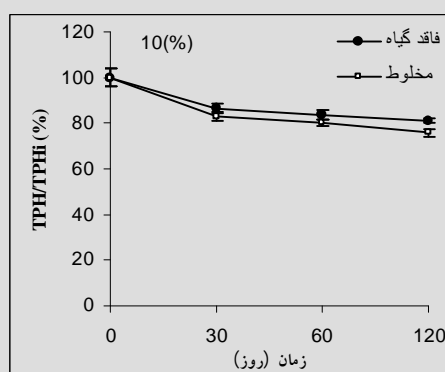
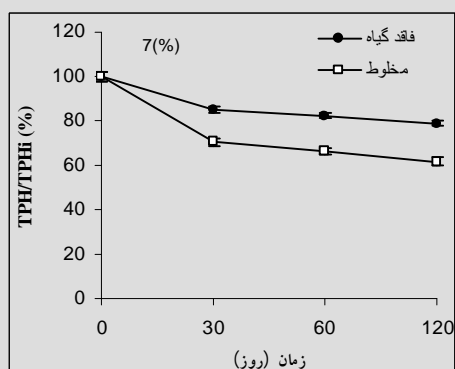
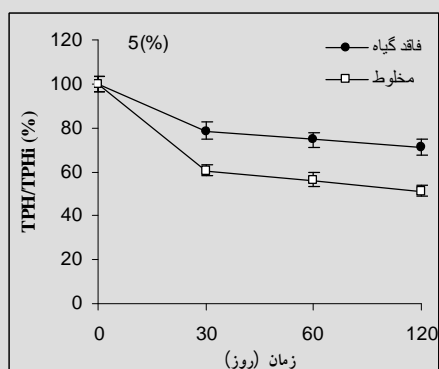
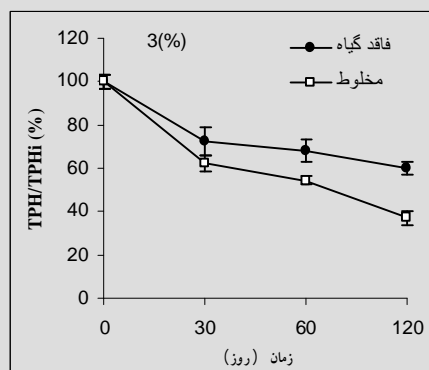
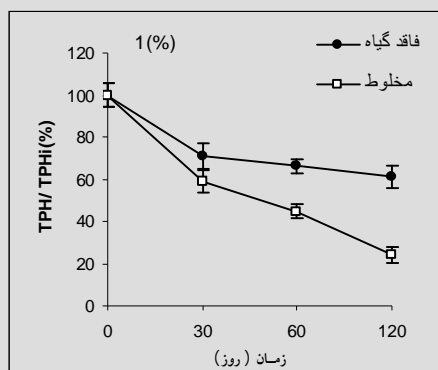
ریشه دیده شد. تأثیر حضور نفت در غلظت‌های بالا مثل 7 و 10 در صد چنان مشهود بود که مقدار زیست توده به کمترین مقدار خود نسبت به شاهد رسید. پراکندگی ریشه در خاک در نمونه شاهد بسیار گسترده بود در حالیکه در نمونه 1 درصد این پراکندگی کاهش مشهود داشت و در غلظت‌های 10 و 7 در صد پراکندگی و گستردگی ریشه در خاک بسیار اندک بود.

### بررسی کاهش مقدار هیدروکربن‌های نفتی در خاک

میزان کل هیدروکربن‌های نفتی موجود در خاک در زمان‌های 0، 30، 60 و 120 روز پس از شروع آزمایش اندازه گیری شد (شکل 4). بیشترین مقدار کاهش نفت در غلظت 1 در صد نفت خام مشاهده شد که به میزان 36/7 در صد کاهش نسبت به زمان شروع ثبت شد. در حالیکه کمترین مقدار کاهش در نمونه 10 درصد بود که در حدود 5/6 در صد بود. در نمونه‌های دارای گیاه مقدار کاهش بیش از نمونه‌های فاقد گیاه بود. مقایسه نمونه‌های دارای گیاه نشان می‌دهد که روند کاهش نفت در خاک در 30 روز اول بیش از روزهای 60 و 120 روز بوده است. در نمونه 1 درصد دارای گیاه روند کاهش پس از 30 روز از افت کمی برخوردار بود در حالیکه در نمونه‌های دیگر پس از 30 روز روند کاهش از افت قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده است. به طوری که در نمونه 10 در صد روند کاهش در نمونه دارای گیاه و بدون گیاه تقریباً یکسان بود.

### بحث

مقایسه شمارش باکتری‌ها در نمونه دارای گیاه و بدون گیاه نشان داد که حضور گیاه در خاک سبب افزایش جمعیت میکروبی خاک شده است. بنظر می‌رسد که منطقه ریشه سپهر شرایط مناسب و بهینه را برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم آورده است. مطالعات گذشته نیز



شکل 4- منحنی کاهش مقدار نفت خام (TPH=Total Petroleum Hydrocarbon) در غلظتهای مختلف نفت در خاک که به صورت نسبت در صد کاهش با زمان شروع یا صفر (TPH/TPHi) نشان داده شده است

- Cerniglia, C.E., (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation.*, 3, 354-368
- Cunningham S.D., T.A Anderson., A.P. Schwab and F. C Hsu. (1996). Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv Agron.* 56:56– 114.
- Gudin, C., W.J. Syrratt (1975). Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. *Environ. Pollut.*, 8: 107-112.
- Gunther, T., U. Dornberger, W. Fritsche (1996). Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 33: 203-215.
- Kirk, J.L., J.N. Klironomos, H. Lee, and J.T. Trevors (2005). The effect of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. *Environ. Pollut.*, 133: 455-465.
- Leahy, J.G. and R. RColwell (1990) Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.*, 54: 305-315.
- Minai-Tehrani, D., A. Herfatmanesh, F. Azari-Dehkordi, and S. Minoori (2006). Effect of salinity on biodegradation of aliphatic fractions of crude oil in soil. *Pak. J. Biol. Sci.*, 9: 1531-1535.
- Reilley, K. A., M.K. Banks and A.P. Schwab (1996). Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J. Environ.Qual.*, 25, 212-219.
- Robertson, G.P., D.C. Coleman, C.S. Bledsoe and P. Sollins, (1999). *Standard soil methods for long-term ecological research*. USA: Oxford Univ. Press.
- Rosenberg E., E.Z. Ron (1996). Bioremediation of petroleum contamination. In R.L. Crawford and D.L. Crawford (Eds) *Bioremediation principles and applications*. UK: Cambridge Univ Press, p:100-124.
- Xu, J. G., R.L. Johnson (1995). Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. *Plant., Soil.*, 173: 3-10.



افزایش تعداد نتوانسته بود در کاهش مقدار آلودگی و تجزیه زیستی آن موثر باشد. با این حال مقایسه کاهش نفت خاک در نمونه‌های دارای گیاه و فاقد گیاه نشان داد که حضور گیاه توانسته است در تجزیه زیستی نفت موثر باشد. این تاثیر بیشتر در نمونه‌های که غلظت نفت در آنها کمتر از 5 درصد بود با بازدهی بهتری انجام شد. با توجه به کاهش بیشتر نفت در نمونه‌ها در 30 روز اول نسبت به روز 60 و 120، چنین پیشنهاد می‌شود که عامل تبخیر ترکیبات فرار موجود در نفت و تجزیه زیستی دو عاملی بودند که سبب کاهش نفت در 30 روز اول شده‌اند ولی با تبخیر مواد فرار، عامل تبخیر در روزهای 60 و 120 آنچنان موثر نبوده و تجزیه زیستی عامل اصلی کاهش نفت از خاک بوده است. در نهایت این مطالعه نشان داد که استفاده از گیاه پالایی با استفاده از مخلوط دو گیاه فسکیو و یونجه برای خاک‌هایی که مقدار آلودگی نفتی آنها بیش از 5 درصد باشد از بازدهی کافی برخوردار نیست، زیرا تأثیر منفی حضور نفت در خاک مانع از رشد گیاه می‌شود.

## منابع

- Anderson, T.A., E.A. Guthrie, B.T. Walton (1993). Bioremediation in the rhizosphere. *Environmt. Sci. Technol.* 27: 2630-2636.
- Aprill, W., R.C. Sims (1990) Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere.* 20: 253-265.
- Atlas, R.M. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol.Rev.*, 45: 180-209.
- Bragg, JR., R.C. Prince, E.J. Harner and R.M. Atlas (1994). Effectiveness of bioremediation of Exxon Valdez oil spill. *Nature*, 368: 413-418.
- Cappuccino, J.G., N. Sherman (1996). *Microbiology, a laboratory manual 4<sup>th</sup> edition*, Benjamin/Cummings Pub.Company, California, USA. p: 115-118.