

گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی در اطراف پالایشگاه اصفهان

فریدا ایرجی آسیابادی^۱، سید احمد میرباقری^۲، محسن سلیمانی^۳

۱- دکترای علوم محیط زیست، گروه محیط زیست، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) (نویسنده مسئول) ۰۹۱۳۳۰۲۸۴۴۶ f_irajy@yahoo.com
۲- استاده، گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی، تهران
۳- استادیار، گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(دریافت ۹۳/۶/۲۵ پذیرش ۹۳/۱۲/۱۹)

چکیده

ترکیبات نفتی یکی از آلودگی‌های متداول خاک در اطراف پالایشگاه‌های نفت است که اغلب منجر به آلودگی آب‌های زیرزمینی نیز می‌شود. گیاه‌پالایی برای پالایش خاک‌های آلوده نسبت به سایر روش‌های فیزیکی- شیمیایی، مؤثر و مقرون به‌صرفه است. در پژوهش حاضر گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی در اطراف پالایشگاه اصفهان بررسی شد. ابتدا درصد جوانه‌زنی چهار گیاه فستوکا، سورگوم، آگروپایرون و جو در خاک آلوده و شاهد بررسی شد. دو گیاه سورگوم و جو که دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی در خاک آلوده بود، برای آزمایش نهایی گیاه‌پالایی انتخاب شد. پس از گذشت ۱۲۰ روز از کاشت گیاهان، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد باکتری‌های کل و نفت‌خوار، تنفس میکربی و غلظت هیدروکربن‌های نفتی خاک تعیین شد. تفاوت معنی‌داری بین تعداد باکتری‌های کل و نفت‌خوار در خاک کشت شده با خاک بدون گیاه وجود داشت. میزان تنفس میکربی در ریزوسفر سورگوم در خاک آلوده بیشتر از ریزوسفر جو بود و میزان کاهش غلظت هیدروکربن‌های نفتی در خاک آلوده کشت شده با سورگوم و جو حدود ۵۲ تا ۶۴ درصد تعیین شد که نسبت به خاک آلوده بدون گیاه ۳۰ درصد بیشتر بود؛ بنابراین سورگوم و جو برای کاهش هیدروکربن‌های نفتی خاک‌های آلوده منطقه مورد مطالعه، پیشنهاد می‌شوند. البته چون دو گیاه فوق می‌توانند مورد چرای دام قرار گیرند، محیط کشت باید ایزوله شود و از ورود دام جلوگیری شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، آلاینده‌های نفتی، پالایش، سورگوم، جو

۱- مقدمه

آلودگی شدید دارند پیشنهاد می‌شوند؛ در حالی‌که روش زیستی ارزان و مناسب برای کاهش آلودگی‌های نفتی خاک است [۴]. یکی از روش‌های زیستی نسبتاً جدید، اقتصادی، مؤثر و دوستدار محیط زیست، گیاه‌پالایی است [۵]. این فناوری مبتنی بر تلفیق فعالیت گیاهان و جامعه میکربی همراه آن برای تجزیه، انتقال، غیرفعال کردن و ساکن‌سازی ترکیبات آلاینده خاک و آب‌های زیرزمینی است [۶]. یکی از دلایل کاهش هزینه پالایش خاک با روش گیاه‌پالایی نسبت به سایر روش‌های پالایش خاک این است که نیروی محرکه آن توسط انرژی خورشید تأمین می‌شود [۷]. مطالعات بسیاری درباره توانایی گیاهان مختلف در حذف بسیاری از آلاینده‌ها به‌ویژه ترکیبات نفتی به اثبات رسیده است. به‌عنوان مثال دیاب در سال ۲۰۰۸ قابلیت سه‌گونه گیاهی را برای پالایش خاک‌های بیابانی آلوده به نفت خام بررسی کردند. درصد

آلودگی محیط‌زیست به‌وسیله مواد آلاینده حاصل از فعالیت‌های گوناگون بشر سبب ایجاد مشکلات محیط زیستی شده است. یکی از مشکلات متداول محیط زیستی در ایران وجود خاک و آب آلوده به مواد نفتی در نواحی اطراف مناطق نفتی و پالایشگاه‌هاست [۱]. آلاینده‌های نفتی موجود در خاک می‌توانند وارد زنجیره غذایی شده و یا در خاک حرکت کرده و خود را به منابع آب زیرزمینی برسانند و سلامت انسان و حیوان را با خطر جدی مواجه سازند [۲]. امروزه با درک مشکلات به‌وجود آمده، تلاش‌های فراوانی به‌منظور پاکسازی محیط زیست صورت گرفته است [۳]. برای کاهش آلودگی‌های نفتی خاک از روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی استفاده می‌شود. روش‌های فیزیکی و شیمیایی پر هزینه و گران است که معمولاً برای خاک‌هایی که

با استفاده از دستگاه جی پی اس ثبت شد. نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک به روش مرکب انجام گرفت. نمونه‌ها در ظروف در بسته شیشه‌ای و در مجاورت تکه‌های یخ بسته‌بندی شده به آزمایشگاه منتقل شد. در مطالعات قبلی گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی در ایران، در اغلب موارد آلودگی به‌طور مصنوعی به خاک پاک اضافه شده است ولی رفتار خاک‌هایی که از محل آلوده به ترکیبات نفتی تهیه می‌شوند با خاک‌های تمیزی که در آزمایشگاه به آن‌ها ترکیبات نفتی اضافه می‌شود، در حین گیاه‌پالایی، کاملاً متفاوت است [۱۵]. لذا در پژوهش حاضر برای دستیابی به نتایج واقعی‌تر، از خاک تهیه شده از محل آلوده که بازتاب شرایط واقعی محل آلوده است، استفاده شد.

۲-۲- اندازه‌گیری برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

با توجه به نقش بسیار مهم ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بر کارایی فرایندهای موثر بر کاهش هیدروکربن‌های نفتی خاک [۱۶]، ابتدا برخی از این ویژگی‌ها در آزمایشگاه بررسی شد. به این منظور نمونه‌های خاک پس از خشک شدن در معرض هوا، توسط الک ۲ میلی‌متری الک شده و بر روی تمام نمونه‌ها با سه تکرار، آزمایش‌هایی برای اندازه‌گیری بافت (روش هیدرومتری)، pH، هدایت الکتریکی، مواد آلی، ازت کل، پتاسیم، CEC، فسفر قابل جذب، درصد رطوبت و تخلخل انجام شد [۲۳-۱۷] (جدول ۱).

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آلوده و شاهد منطقه مورد مطالعه

آلوده	شاهد	
Sandy clay loam	Sandy clay loam	بافت خاک
۷/۳	۷/۹	pH (۱:۲/۵)
۳/۲	۱/۷	EC (dS/m)
۱۰	۸/۲	CEC (cmol ⁺ /kg)
۴/۷	۰/۸	مواد آلی (درصد)
۰/۹	۰/۰۷	نیترژن کل (درصد)
۲۵	۳۲	آهک (درصد)
۳۱	۲۲	رطوبت (درصد)
۵۰	۵۰	تخلخل (درصد)
۱۹/۸	۴/۵	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۸۴	۶۵	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۲۴	۱۴/۵	سدیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱۴۶	۷۴	نیکل (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

تخریب نفت در گیاهان مورد مطالعه شامل ویسیافابا^۱، زی مایز^۲ و تریتیوم/استیوم^۳ به ترتیب ۶۲/۴ درصد، ۱۹/۹ درصد و ۱۷/۶ درصد گزارش شد [۸].

زانگ و همکاران در سال ۲۰۱۰ گیاه‌پالایی خاک آلوده به مواد نفتی را با گیاه *فاربتیس نیل*^۴ بررسی کردند. میزان کاهش ترکیبات نفتی بعد از گذشت ۱۲۷ روز در خاک کشت شده با گیاه به ۲۷/۷ تا ۶۷/۴ درصد رسید، در حالی که در خاک بدون گیاه فقط به میزان ۱۰/۲ تا ۳۵/۶ درصد بود [۹].

لو و همکاران در سال ۲۰۱۰ قابلیت گیاه بیدنز ماکسیمویک *زیانا*^۵ را در تخریب *پیرن*^۶ بررسی کردند. بعد از گذشت ۵۰ روز از رشد گیاه، میانگین حذف *پیرن* در خاک آلوده ۲۸ درصد بیشتر از خاک بدون گیاه بود [۱۰].

در مطالعات گیاه‌پالایی، گیاهان باید به گونه‌ای انتخاب شوند که از حداکثر جوانه‌زنی، رشد، توسعه و سطح ویژه ریشه برخوردار باشند [۱۱]. همچنین از گیاهان بومی باشند و نسبت به شرایط خاک منطقه سازگار باشند و امکان تکمیل دوره رشد آن‌ها در شرایط آلودگی وجود داشته باشد. گونه‌های گراس، مانند گیاه سورگوم از خانواده گندمیان، علاوه بر توانایی رشد و سازش با شرایط اقلیمی مختلف نظیر آب و هوای گرم و خشک، توانایی حذف آلاینده‌های آلی ناشی از ترکیبات نفتی را نیز به خوبی دارند [۱۲ و ۱۳]. جو نیز گیاهی مقاوم از خانواده گراس‌ها است که توانایی بالایی برای ایجاد سازگاری با شرایط محیطی دارد. ریشه گیاه جو قادر است تا عمق دو متر در خاک نفوذ کند و تراکم بالای ریشه‌های آن در ایجاد شرایط ریزوسفری بسیار کارآمد عمل می‌کنند [۱۴]. هدف از پژوهش حاضر بررسی گیاه‌پالایی هیدروکربن‌های نفتی خاک آلوده در منطقه پالایشگاه اصفهان بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌برداری خاک

با توجه به مشاوره و هماهنگی انجام شده با بخش محیط زیست پالایشگاه اصفهان، نمونه‌برداری خاک آلوده از زمین مجاور واحد گوگرد پالایشگاه صورت گرفت و خاک شاهد از خاک غیرآلوده اطراف همان منطقه نمونه‌برداری شد. عملیات نمونه‌برداری در هشت ایستگاه انجام شد و مشخصات هشت ایستگاه نمونه‌برداری

¹ *Vicia faba*

² *Zea mays*

³ *Triticum aestivum*

⁴ *Pharbitis nil L*

⁵ *Bidens Maximowicziana*

⁶ *Pyrene*

۳-۲- اندازه‌گیری مقدار هیدروکربن‌های نفتی خاک

به‌منظور تعیین غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی و برخی از هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای موجود در خاک ابتدا عصاره‌گیری به روش سوکسله با نسبت مساوی آن‌هگزان و دی‌کلرومتان انجام شد [۲۴]. ترکیبات جدا شده در مرحله قبل برای جداسازی حلال و تغلیظ نمونه‌ها، درون روتاری توسط خلاء، خشک و تغلیظ شد، سپس به روش کروماتوگرافی ستونی با استفاده از ستون سیلیکاژل و آلومینا عملیات خالص‌سازی بر روی آن‌ها انجام شد [۲۵]. با استفاده از دستگاه GC-FID و به روش ۸۳۱ سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا^۱ غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی و برخی از هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای موجود در خاک تعیین شد [۲۶] (جدول ۲).

۴-۲- آزمایش اولیه جوانه‌زنی و رشد

این مرحله شامل تهیه و تدوین لیستی از گیاهان برای انجام آزمایش گیاه‌پالایی بود که با توجه به مطالعات قبلی و شرایط منطقه پالایشگاه اصفهان، چهارگونه گیاهی فستوکا^۲، سورگوم^۳، آگروپایرون^۴ و جو^۵ برای آزمایش جوانه‌زنی مورد بررسی قرار گرفت. ۲۵ عدد بذر از هر یک از گیاهان مورد مطالعه در دو نمونه خاک آلوده و شاهد با سه تکرار در پتری‌دیش کشت داده شد. تعداد بذرهای جوانه‌زده در طول ۱۴ روز شمارش شد. با توجه به نتایج درصد جوانه‌زنی، دو گیاه سورگوم و جو برای آزمایش نهایی گیاه‌پالایی انتخاب شد.

جدول ۲- غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی و برخی هیدروکربن‌های چندحلقه‌ای خاک آلوده

غلظت (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	هیدروکربن نفتی اندازه‌گیری شده
۷۵۰۰۰	کل هیدروکربن‌های نفتی
۴۵	نفتالین
۳۴	فنانترون
۶	آنتراسن
۲۹	فلورانتن
۱۶	پایرن
۰/۴	بنزو k فلورانتن
۰/۷	بنزو a پایرن

¹ US. Environmental Protectoin Agency (USEPA)

² Festuca arundinacea

³ Sorghum Bicolor

⁴ Agropyron Elongatum

⁵ Hordeum Vulgare

۵-۲- آزمایش گیاه‌پالایی

نمونه خاک‌های مورد مطالعه (خاک آلوده و شاهد) در گلدان‌هایی به قطر ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر در سه تکرار ریخته شد. سپس بذر گیاهان جو و سورگوم در عمق ۱ تا ۲ سانتی‌متری سطح خاک کشت شد. از هر یک از خاک‌های مورد مطالعه، نمونه بدون گیاه نیز برای حذف اثرات محیطی بر کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی موجود در نظر گرفته شد. آزمایش گیاه‌پالایی در فاصله تیر تا آبان ۱۳۹۱ انجام شد. دمای حداقل و حداکثر روزانه گلخانه ثبت شد و آبیاری بر حسب مشاهده وضعیت روزانه گیاهان و به‌گونه‌ای که آبی از ته گلدان خارج نشود، انجام گرفت. به دلیل محدودیت دسترسی به بافت ریشه، عمل برداشت در مراحل انتهایی پژوهش انجام شد. پس از گذشت ۱۲۰ روز از کاشت گیاهان، نمونه خاک برای تعیین غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی در تیمارهای گیاهی از خاک ریزوسفری برداشت شد. سپس ریشه و اندام هوایی گیاهان مورد مطالعه از یکدیگر جدا و در آون با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شد.

۶-۲- بررسی میزان تنفس میکروبی در خاک

به‌منظور بررسی میزان تنفس میکروبی در خاک آلوده و شاهد از هر یک از نمونه خاک‌های ریزوسفری، ۲۵ گرم در ظروف مخصوص تنفس میکروبی ریخته شد. آنگاه به هر یک از خاک‌ها تا ۰/۷ ظرفیت زراعی آب مقطر افزوده شد. در هر یک از ظرف‌ها، یک لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سود نیم نرمال قرار داده و در ظرف‌ها محکم بسته شد، سپس ظرف‌ها در دستگاه انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از مدت یک هفته، لوله‌های آزمایش از داخل ظرف‌های تنفس میکروبی خارج و محتویات آن در داخل ارلن مایر ریخته شد و سپس به هر یک از نمونه‌ها ۱۰ میلی‌لیتر کلریدباریم ده درصد و چند قطره معرف فنل‌فتالین افزوده و محتویات ارلن‌مایرها با اسیدسولفوریک ۰/۲۵ نرمال تیترا شد. در نهایت میزان میلی‌گرم کربن تولید شده به صورت CO₂ طی فرایند تنفس میکروبی بر حسب میزان اسید مصرفی محاسبه شد [۲۷].

۷-۲- تعیین تعداد کل باکتری‌های خاک و نفت‌خوار

برای تعیین تعداد کل باکتری‌ها در خاک، مقدار ۱ گرم خاک در لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول استریل کلریدسدیم ۹ گرم در لیتر ریخته شد. مخلوط به شدت تکان داده شد و از آن رقت‌های ۱۰^{-۱} تا ۱۰^{-۸} تهیه شد. سپس محلول‌های رقیق شده به محیط جامد غنی‌نوترینت آگار منتقل شد. پلیت‌ها در انکوباتور به مدت ۴۸

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج آزمایش اولیه جوانه‌زنی و رشد

شکل ۱ درصد جوانه‌زنی گیاهان جو، سورگوم، آگروپایرون و فستوکا را در طول دوره ۱۴ روز در دو تیمار آلوده و شاهد نشان می‌دهد. تحلیل‌های آماری مقایسه میانگین نمونه‌های مستقل، نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری در سطح ۵ درصد برای جوانه‌زنی بذر گیاه سورگوم در خاک آلوده نسبت به خاک شاهد و وجود اختلاف آماری برای جوانه‌زنی بذر گیاهان جو، آگروپایرون و فستوکا در خاک آلوده نسبت به خاک شاهد است. میزان کاهش جوانه‌زنی در خاک آلوده نسبت به خاک شاهد برای گیاهان سورگوم، جو، آگروپایرون و فستوکا به ترتیب ۱۴، ۲۸، ۸۴، ۸۵ درصد بود. گیاه سورگوم و جو به ترتیب دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی در خاک آلوده بود (جدول ۳). بذر فستوکا و آگروپایرون نسبت به بذر گیاهان سورگوم و جو به سبب داشتن اندازه کوچک‌تر و سطح تماس بیشتر با خاک و آلاینده‌های نفتی، کاهش بیشتری در میزان جوانه‌زنی در خاک آلوده نشان داد. ولی بذر سورگوم با اندازه

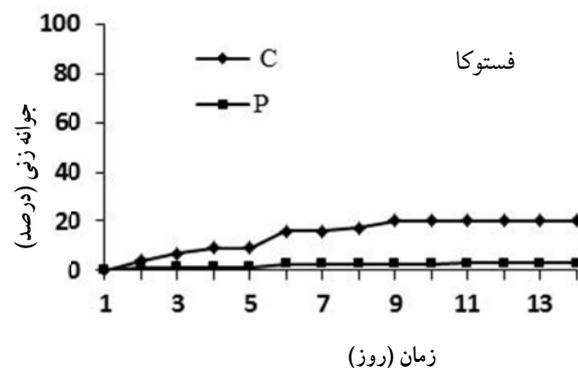
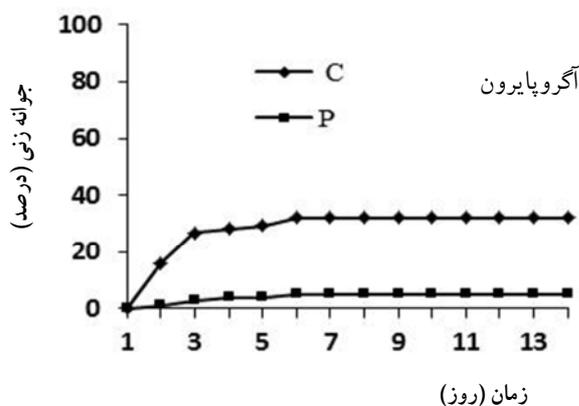
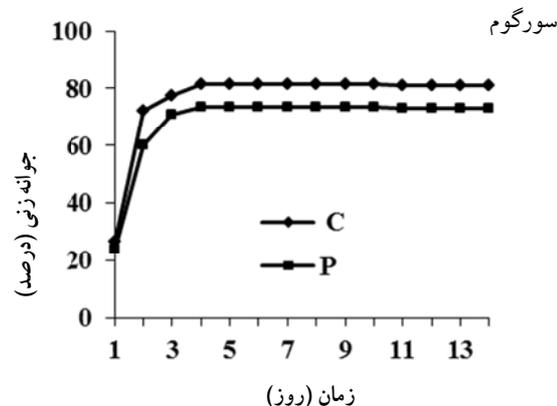
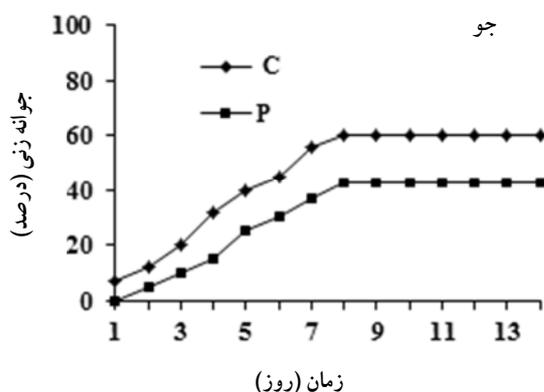
ساعت و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شد، سپس کلونی‌های ایجاد شده شمارش شد.

برای شمارش باکتری‌های نفت‌خوار خاک نیز از روش بالا استفاده شد. با این تفاوت که محیط کشت شامل ۹۹۰ میلی‌لیتر محلول استریل آگار و $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}(0/02)$, $\text{FeCl}_3(0/05)$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}(0/2)$, $\text{K}_2\text{HPO}_4(1)$, $\text{NH}_4\text{NO}_3(1)$ در $\text{KH}_2\text{PO}_4(1)$ pH برابر ۷ بود و ۱۰ میلی‌لیتر نفت استریل فیلتر شده (نفت خام تازه پالایشگاه نفت اصفهان) نیز به‌عنوان تنها منبع کربن به محیط کشت اضافه شد [۲۸].

۲-۸- طرح آماری مورد استفاده و تجزیه آماری داده‌ها

در این پژوهش از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد و داده‌های به‌دست آمده به‌وسیله آزمون‌های مقایسه میانگین نمونه‌های مستقل T-Test و آنالیز واریانس با نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شدند. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار اکسل^۱ استفاده شد.

^۱ Excel



شکل ۱- مقایسه درصد جوانه‌زنی در دو تیمار آلوده (P) و شاهد (C) در گیاهان مورد مطالعه در مدت ۱۴ روز

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های درصد جوانه زنی بذر گیاهان مورد مطالعه در تیمارهای شاهد و آلوده در مدت ۱۴ روز

سورگوم	جو	آگروپایرون	فستوکا
۷۳ ^a	۴۳ ^b	۵ ^c	۳ ^c
۸۵/۳ ^a	۶۰ ^a	۳۲ ^b	۲۰ ^b

اعداد هر سطر با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

مورد مطالعه بر جوانه‌زنی گیاهان تأثیری نداشت ولی موجب کاهش رشد گیاهان مورد مطالعه شد [۳۱].

۳-۲- نتایج آزمایش گیاه‌پالایی

۳-۲-۱- عملکرد ماده خشک گیاه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس عملکرد ماده خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان سورگوم و جو در تیمارهای آلوده و شاهد در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نمایانگر آن است که نوع گیاه و نوع تیمار بر عملکرد ماده خشک اثرگذار بوده است. بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های وزن خشک اندام هوایی و ریشه سورگوم و جو در خاک آلوده گویای آن بود که وجود هیدروکربن‌های نفتی در خاک موجب کاهش رشد و عملکرد ماده خشک اندام هوایی و ریشه در مقایسه با تیمار شاهد شده است. کاهش حدود ۳۰ و ۲۲ درصدی در عملکرد ماده خشک ریشه و کاهش حدود ۴۲ و ۵۱ درصدی در عملکرد ماده خشک اندام هوایی به ترتیب برای جو و سورگوم در تیمار آلوده نسبت به تیمار شاهد دیده شد. بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه در تیمار شاهد برای گیاه سورگوم و کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی و ریشه در تیمار آلوده برای گیاه جو بود (جدول ۴).

چیمبا و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز در مطالعه خود به کاهش ۵۳/۵ و ۲۹/۷ درصدی عملکرد ماده خشک اندام هوایی و ریشه گیاه فستوکا آروندیناسیا^۴ در خاک آلوده به فنانترن و پیرین بعد از ۶۵ روز از رشد فستوکا بلند اشاره کردند [۳۲] به نظر می‌رسد که مسمومیت ایجاد شده به سبب وجود آلاینده‌های نفتی در خاک و

بزرگ‌تر و مقاومت نسبت به آلاینده‌های نفتی دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی در خاک آلوده بود. به نظر می‌رسد در این پژوهش وجود آلاینده‌های نفتی در خاک باعث کاهش جوانه‌زنی گیاهان جو، فستوکا و آگروپایرون در مدت دوره آزمایش شده است، در حالی که شروع جوانه‌زنی فقط با یک روز تأخیر در گیاهان جو، آگروپایرون و فستوکا نسبت به گیاه سورگوم انجام شده است (شکل ۱). آنچه سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاه در خاک آلوده به مواد نفتی می‌شود، ایجاد یک لایه روغنی اطراف بذر است که بر قابلیت جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه تأثیرگذار است [۲۹]. مطالعات متعددی به وجود ارتباط مستقیم بین افزایش هیدروکربن‌های نفتی خاک و جوانه‌زنی ضعیف اشاره دارند. به عنوان مثال مایلا و کلوت در سال ۲۰۰۲ جوانه‌زنی گیاه لپی‌دیوم ساتی‌ووم^۱ را در خاک آلوده به هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای^۲ بررسی کردند. سطح جوانه‌زنی گیاه لپی‌دیوم^۲ با افزایش غلظت PAH در خاک‌های آلوده کاهش یافت. در غلظت‌های ppm ۱۰۰۰ و ۵۰ ppm درصد جوانه زنی به ترتیب کمتر از ۱۶ درصد و بیشتر از ۷۵ درصد بود. بنابراین جوانه‌زنی گیاه لپی‌دیوم ساتی‌ووم به عنوان شاخصی برای کاهش میزان PAH خاک معرفی شد [۳۰]. برخی از مطالعات نیز نشان داده‌اند که اگر چه وجود ترکیبات نفتی در خاک نتوانسته بر جوانه‌زنی برخی از گیاهان اثرگذار باشد، ولی موجب کاهش رشد و عملکرد آن‌ها شده است. اسمیت و همکاران در سال ۲۰۰۶ در بررسی جوانه‌زنی و رشد هفت گونه علفی و لگوم در خاک آلوده با سطوح مختلف PAH بیان کردند که تیمارهای

¹ *Lepidium Sativum*

² Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)

³ *Lepidium*

⁴ *Festuca Arundinacea*

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس عملکرد ماده خشک ریشه و اندام هوایی گیاه سورگوم و جو (گرم برگلدان)

در تیمارهای شاهد و آلوده

گیاه	سورگوم	جو	جو	سورگوم
	خاک آلوده		خاک شاهد	
وزن خشک ریشه	۰/۳۸ ^b	۰/۲۸ ^b	۰/۴ ^a	۰/۴۹ ^a
وزن خشک اندام هوایی	۲ ^c	۱/۶ ^c	۲/۸ ^b	۴/۱ ^a

اعداد هر سطر با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

همچنین ایجاد محدودیت در رشد و توسعه ریشه و کاهش قابلیت جذب آب و عناصر غذایی، عوامل اصلی کاهش رشد و عملکرد ماده خشک گیاهی در خاک آلوده بوده است [۳۳].

۳-۲-۲- میزان کل هیدروکربن‌های نفتی خاک

نتایج آماری نشان داد که در حضور گونه‌های گیاهی سورگوم و جو میزان کاهش هیدروکربن‌های نفتی نسبت به تیمارهای بدون گیاه ۳۰ درصد بیشتر است. به دلیل وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین اثر حضور پوشش گیاهی سورگوم و جو و تیمار بدون گیاه، می‌توان کاهش غلظت هیدروکربن‌های نفتی را مربوط به نقش مؤثر سورگوم و جو بر پالایش آلاینده‌های نفتی موجود دانست. البته نوع گیاه نیز دارای اثر معنی‌داری بر کاهش غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی خاک بود به شکلی که اختلاف معنی‌داری بین جو و سورگوم در کاهش غلظت هیدروکربن‌های نفتی در تیمار آلوده دیده شد. تجزیه و تخریب آلاینده‌های نفتی در حضور سورگوم نسبت به جو بیشتر بود. سورگوم و جو به ترتیب سبب کاهش حدود ۶۴ و ۵۲ درصدی غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی نسبت به غلظت اولیه این ترکیبات در شروع دوره آزمایش شد. حضور پوشش گیاهی از طریق افزایش قابلیت دسترسی زیستی هیدروکربن‌ها، ترشحات ریشه، تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی و بهبود خواص فیزیکی خاک، می‌تواند سبب افزایش تخریب این آلاینده‌های آلی در خاک شود. در همین راستا مطالعات بسیاری درباره نقش گیاهان مختلف در پالایش خاک آلوده به نفت انجام شده است. عابدی کوپایی و همکاران در سال ۲۰۱۳ از گیاه ری‌گراس دائمی (لولیم) به منظور بررسی روند زوال درصد ترکیبات نفتی استفاده نمودند. نتایج آزمایش‌های گیاه‌پالایی با استفاده از گیاه لولیم ۶۵ درصد کاهش ترکیبات نفتی را طی مدت ۱۷ هفته نشان داد [۳۴]. لیست و الکساندر در سال ۲۰۰۰ قابلیت نه‌گونه گیاهی را برای کاهش پیرن در خاک آلوده بررسی کردند. در مدت هشت هفته میانگین حذف پیرن از خاک با گیاه ۷۴ درصد و در خاک بدون گیاه کمتر از ۴۰ درصد بود [۳۵]. هاتچینسون و همکاران در سال ۲۰۰۱ کاهش حدود ۶۸ و ۶۲ درصدی غلظت هیدروکربن‌های نفتی در خاک را به ترتیب در حضور مرغ پنجه‌ای و فسکیو گزارش نمودند [۳۶]. پنگ و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که متوسط کارایی حذف TPH به وسیله میرابیلیس جالا پال^۱ در طی ۱۲۷ روز از دوره کشت ۴۱ تا ۶۳ درصد بود. در حالی که میزان حذف طبیعی فقط ۱۹ تا ۳۷ درصد بود. این چنین به نظر می‌رسد که تخریب

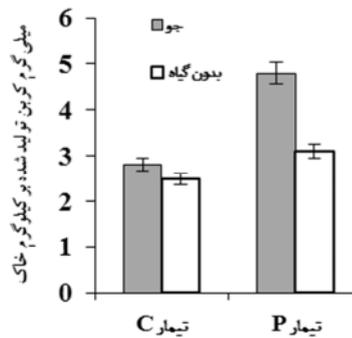
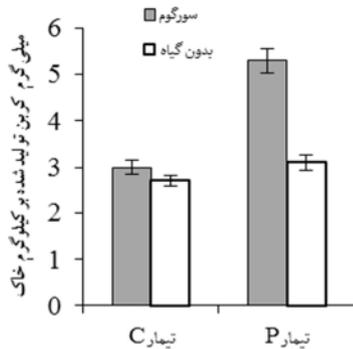
آلودگی خاک ناشی از فعالیت میکربی در منطقه ریزوسفر است [۳۷]. کایمی و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که در محدوده ریزوسفری گیاه رای‌گراس میزان نفت ۵۵ درصد کمتر از ریشه‌های آزاد در همان خاک است؛ همچنین در ریزوسفر تعداد باکتری‌های هوازی بیشتر از خاک غیر ریزوسفری بود و با رشد ریشه‌ها همبستگی مثبت داشت [۳۸]. آگاموتو و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه خود بیان کردند که مقدار هیدروکربن مورد استفاده باکتری‌ها در ریزوسفر گیاه جاتروفاکورکاس^۲ بالا است و مکانیسم تخریب از طریق ریزوسفر است [۳۹]. در این پژوهش نیز میزان کاهش نفت بیشتری در ناحیه ریزوسفری نسبت به سایر نقاط گلدان وجود داشت.

۳-۳- نتایج بررسی میزان تنفس میکربی

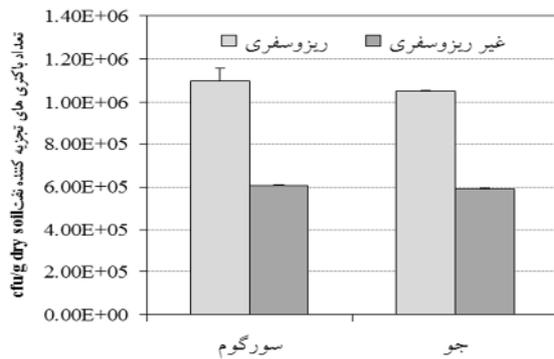
نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های میزان کربن تولیدی به صورت CO₂ ناشی از تنفس میکربی در خاک‌های آلوده و شاهد در حضور گیاهان سورگوم و جو در مقایسه با تیمار بدون گیاه نشان داد که در خاک شاهد، تفاوت معنی‌داری در تنفس میکربی بین تیمارهای با حضور گونه‌های گیاهی سورگوم و جو و تیمارهای بدون گیاه وجود ندارد ولی در خاک آلوده این تفاوت معنی‌دار است. در خاک شاهد تنفس میکربی در حضور سورگوم و جو نسبت به تیمار بدون گیاه فقط ۱۱ درصد بیشتر بود در حالی که در خاک آلوده تنفس میکربی در حضور سورگوم و جو نسبت به تیمار بدون گیاه به ترتیب ۷۱ و ۵۴ درصد بیشتر بود. همچنین در خاک شاهد تفاوت معنی‌داری در تنفس میکربی بین تیمارهای حاوی گیاه سورگوم با تیمارهای حاوی گیاه جو وجود نداشت؛ در صورتی که در خاک آلوده این تفاوت معنی‌دار بود و تنفس میکربی در حضور سورگوم ۱۰ درصد بیشتر از جو بود (شکل ۲). در خاک آلوده نسبت به خاک شاهد میزان تنفس میکربی افزایش یافت؛ زیرا آلودگی باعث تحریک جامعه میکربی خاک می‌شود و فعالیت برخی ریزجانداران را کاهش و برخی را افزایش می‌دهد [۴۰]. افزایش ریزجانداران احتمالاً به دلیل نقش آلودگی به عنوان سوبسترا برای جامعه میکربی و فعالیت زیاد ریزجانداران بومی است. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که میزان تخریب هیدروکربن‌های نفتی خاک با تنفس میکربی و تعداد باکتری‌های مخرب ارتباط دارد [۴۱، ۴۲ و ۴۳]. گیاهان قادراند از طریق رهاسازی عناصر غذایی و ترشحات خود در خاک و انتقال اکسیژن به ناحیه ریشه موجب تحریک و افزایش فعالیت جمعیت میکربی تخریب‌کننده

² *Jatropha Curcas*

¹ *Mirabilis Jalapa L*



شکل ۲- مقایسه میانگین میزان میلی‌گرم کربن تولید شده در فرایند تنفس میکروبی در خاک‌های آلوده (P) و شاهد (C) در ریزوسفر گیاه جو و سورگوم



شکل ۴- مقایسه تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت در ریزوسفر گیاهان سورگوم و جو در خاک آلوده در مقایسه با محدوده غیر ریزوسفری

با تعداد ریزجانداران خاک همبستگی منفی دارد و بیشترین مقدار کاهش نفت در محدوده ریزوسفری خاک است که به علت افزایش تعداد ریزجانداران خاک در این محدوده است [۱۶، ۴۵، ۴۶ و ۴۷]؛ و ریزوسفر با افزایش تخریب زیستی آلاینده‌های نفتی، افزایش تعداد و تنوع باکتری‌های تجزیه‌کننده نفت، افزایش ترشح ترکیبات شیمیایی و تحریک گیاهی باعث تخریب هیدروکربن‌های نفتی خاک می‌شود [۴۷].

۴- نتیجه‌گیری

سالانه مقدار زیادی ضایعات نفتی در پالایشگاه نفت اصفهان ایجاد می‌شود که این ترکیبات آلی، به دلیل سمی بودن، سرطان‌زایی و ایجاد تغییرات موتاژنتیکی، پتانسیل ایجاد آلودگی خاک و آب زیرزمینی منطقه را خواهند داشت. این مسئله به‌ویژه در اصفهان که منطقه‌ای خشک و نیمه خشک است و محدودیت دسترسی به آب‌های سطحی مناسب وجود دارد، بیشتر جلوه کرده است. علاوه بر این احیای آب‌های زیرزمینی آلوده بسیار طولانی و پرهزینه است. بنابراین بررسی و مطالعه روش‌های کاهش میزان غلظت

آلاینده‌های نفتی شوند. گیاه جو و سورگوم هر دو دارای سیستم ریشه‌ای گسترده هستند، گیاهان با سیستم ریشه‌ای گسترده به دلیل سطح ویژه‌شان باعث افزایش فعالیت میکروبی ناحیه ریشه شده و به این طریق باعث افزایش سرعت تجزیه ترکیبات نفتی در خاک می‌شوند [۳۶]. در این پژوهش نیز نقش مؤثر گونه‌های جو و سورگوم برای افزایش تنفس میکروبی و کاهش هیدروکربن‌های نفتی خاک تأیید شد.

۳-۴- نتایج تعیین تعداد باکتری‌های کل و نفت‌خوار کل

بعد از گذشت ۲۰ روز از کاشت دو گونه گیاهی تعداد باکتری‌های کل و نفت‌خوار خاک محاسبه شد. تعداد باکتری‌های کل و تجزیه‌کننده نفت در نمونه‌های دارای گیاه نسبت به نمونه‌های بدون گیاه بیشتر بود و تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد در تیمارهای با گیاه نسبت به تیمارهای بدون گیاه مشاهده شد. حضور گونه گیاهی باعث افزایش ریزجانداران نسبت به خاک بدون کاشت گیاه می‌شود [۱۰، ۳۲ و ۴۴]. مقایسه نمونه‌های دارای گیاه نشان داد که تعداد باکتری‌های کل در خاک آلوده همواره بیشتر از خاک شاهد است. بیشترین تعداد باکتری‌های کل و تجزیه‌کننده نفت در محدوده ریزوسفری گیاهان سورگوم و جو دیده شد (شکل‌های ۳ و ۴). مطالعات بسیاری نشان داد که مقدار TPH باقیمانده در خاک



شکل ۳- مقایسه تعداد باکتری‌های کل در ریزوسفر گیاهان سورگوم و جو در خاک آلوده و شاهد در مقایسه با محدوده غیر ریزوسفری

اضافه می‌شود. با حضور گیاه در خاک، جمعیت و تنفس میکروبی خاک افزایش یافت و منطقه ریزوسفری شرایط مناسب و بهینه را برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم آورد. نتایج به‌دست آمده در سطح ۵ درصد مبین نقش مثبت و عملکرد مناسب گیاهان انتخابی در حذف هیدروکربن‌های نفتی از خاک بود. اهمیت واقعی این موضوع از آنجایی که آلاینده‌های آلی حتی در غلظت‌های بسیار اندک، تهدیدی جدی برای سلامتی بشر محسوب می‌شوند، مشخص است؛ بنابراین افزایش در میزان حذف آلاینده‌های نفتی در حضور گیاه سورگوم و جو نقشی مهم در بهبود وضعیت خاک منطقه دارد.

۵- قدردانی

نویسندگان از حمایت مدیر عامل محترم شرکت پالایش نفت اصفهان، مدیر محترم اداره پژوهش و توسعه این شرکت جناب آقای مهندس ناظم و سایر پرسنل محترم به ویژه جناب آقای مهندس هدایتی کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

آلاینده‌های نفتی در خاک پالایشگاه نفت اصفهان، قبل از رسیدن به سفره آب زیرزمینی ضروری است. لذا در این پژوهش تأثیر دو گیاه سورگوم و جو برای کاهش هیدروکربن‌های نفتی خاک منطقه پالایشگاه اصفهان بررسی شد. اگرچه جوانه‌زنی هر دو گیاه در خاک آلوده کاهش یافت، اما نتایج نشان داد که این گیاهان قادرند غلظت بالای هیدروکربن‌های نفتی خاک را تحمل کنند و مواد سمی موجود در خاک نتوانسته‌اند بر دانه گیاه تأثیر مستقیم گذارند و مانع از جوانه زدن آن شوند. غلظت هیدروکربن‌های نفتی خاک بعد از کاشت کاهش زیادی نسبت به قبل از کاشت نشان داد به طوری که سورگوم و جو به ترتیب منجر به کاهش ۶۴ و ۵۲ درصدی غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک شد که نسبت به خاک بدون گیاه حدود ۳۰ درصد بیشتر بود. کاهش غلظت هیدروکربن‌های نفتی در خاک‌های فاقد گیاه به عواملی مانند شستشوی آن از بافت خاک، جذب سطحی، اکسیداسیون در مقابل نور، تبخیر و تجزیه بیولوژیکی نسبت داده شده است. در حالی که در خاک‌های دارای پوشش گیاهی، مشخصه جذب و تجزیه گیاهی نیز به موارد بالا

۶- مراجع

- Gitypour, S., Nabi Bidhendi, Gh.R., and Gorghi, M.A. (2004). "Contamination of soils near the Tehran oil refinery by leakage of crude oil." *Environmental Studies*, 30(34), 39-45. (In Persian).
- Khan, A.G. (2005). "Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation." *J. of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(4), 355-364.
- Rezvani, M., Noor-Mohammadi, G.H., and Zafarian, F. (2005). "Cleaning up of contaminated soil, groundwater and air by plants." *J. Agricultural Sciences*, 11, 7-25. (In Persian).
- Leahy, J.G., and Colwell, R.R. (1990). "Microbial degradation of hydrocarbons in the environment." *Microbiological Reviews*, 54(3), 305-315.
- Newman, L.A., and Reynolds, C.M. (2005). "Bacteria and phytoremediation: New uses for *endophytic* bacteria in plants." *Trends in Biotechnology*, 23(1), 6-8.
- Cunningham, S.D., Shann, J.R., Crowley, D.E., and Anderson, T.A. (1997). "Phytoremediation of contaminated water and soil." Kruger, E.L. Anderson, T.A. and Coats, J.R. (Eds.). *Phytoremediation of soil and water contaminants*, ACS Symposium Series No. 664. American Chemical Society, Washington, DC.
- Luepromchai, E., Lertthamrongsak, W., Pinphanichakarn, P., Thaniyavarn, S., Pattaragulwanit, K., and Juntongjin, K. (2007). "Biodegradation of PAHs in petroleum-contaminated soil using tamarind leaves as microbial inoculums." *Songklanakarinn J. of Science and Technology*, 29(2), 515- 527.
- Diab, E.A. (2008). "Phytoremediation of oil contaminated desert soil using the rhizosphere effects." *Global J. of Environmental Research*, 2 (2), 66-73.
- Zhang, Z., Zhou, Q., Peng, S., and Cai, Z. (2010). "Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Pharbitis nil* L. and its microbial community." *Science of the Total Environment*, 408(22), 5600-5605.
- Lu, S., Teng, Y., Wang, J., and Sun, Z. (2010). "Enhancement of pyrene removed from contaminated soils by *Bidens Maximowicziana*." *Chemosphere*, 81(5), 645-650.
- Adam, G., and Duncan, H. (2002). "Influence of diesel fuel on seed germination." *Environmental pollution*, 120(2), 363-370.

12. Banks, M.K., Lee, E., and Schwab, A. P. (1999). "Evaluation of dissipation mechanisms for benzo(a) pyrene in the rhizosphere of tall Fescue." *J. of Environmental Quality*, 28(1), 294-298.
13. McCutcheon, S.C., and Schnoor, J.L. (2004). *Phytoremediation, transformation and control of contaminants*, (Vol. 121). John Wiley and Sons Inc., N.Y.
14. Rangzan, N., and landi, A. (2007). "The role of plants in the remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated Soils." *Scientific J. of Agriculture*, 30(3), 79-91. (In Persian)
15. Huang, X.D., El-Alawi, Y., Gurska, J., Glick, B.R., and Greenberg, B.M. (2005). "A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils." *Microchemical Journal*, 81(1), 139-147.
16. Tang, J., Lu, X., Sun, Q., and Zhu, W. (2012). "Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions." *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 149, 109-117.
17. Thomas, G.W. (1996). "Soil pH and soil acidity." Sparks D.L. (Eds.), *Methods of soil analysis*, American Society of Agronomy, Madison Wisconsin USA. 475-490.
18. Rhoades, J.D. (1996). "Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids." Page, A.L., Miller, R.H., and Keeny D.R. (Eds.), *Methods of soil analysis*, American Society of Agronomy, Madison Wisconsin USA. 417-435.
19. Nelson, D.W., and Sommer, L.E. (1982). "Total carbon, organic carbon and organic matter." Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of soil analysis*, American Society of Agronomy, Madison Wisconsin, USA. 539-576.
20. Bremner, J.M., and Mulvaney C.S. (1982). "Nitrogen-Total." Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of soil chemical analysis*, American Society of Agronomy., Madison Wisconsin, USA. 595-624.
21. Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. (1982). *Methods of soil analysis*, American Society of Agronomy. Madison Wisconsin USA. 1159.
22. Bower, C.A., Reitmeir, R.F., and Fireman, M. (1952). "Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils." *Soil Science*, 73(4), 251-261.
23. Olsen, S.R., and Sommers, L.E. (1982). "Phosphorus." Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R., Baker, D.E., Ellis, R., and Rhoades, J.D. (Eds.), *Methods of soil analysis*, American Society of Agronomy, Madison Wisconsin, USA. 403-430.
24. Christopher, S., Hein, P., Marsden, J., and Shurleff, A.S. (1988). *Evaluation of methods 3540 (soxhlet) and 3550 (Sonication) for evaluation of appendix IX analyses from solid samples*, SCUBED, Report for EPA contract 68-03-33-75, Work Assignment No.03, Document No. (pp. 523-546). SSS.
25. Samimi, S.V., Akbari Rad, R., and Ghanizadeh, F. (2009). "Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination level in collected samples from vicinity of a highway." *Iranian J. of Environmental Health Science and Engineering*, 6(1), 41-52.
26. U.S. EPA. (1984). *Interlaboratory comparison stunt: Methods for volatile and semi-volatile compounds*, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, Las Vegas, NV, EPA. 600/4- 84- 027.
27. Besaltpour, A.A., Hajabbasi, M.A., Khoshgoftarmanesh, A.H., and Afyuni, M. (2008). "Remediation of petroleum contaminated soils around the Tehran oil refinery using Phytostimulation method." *J. of Agricultural. Sciences. Natural. Resources*, 44, 13-23. (In Persian).
28. Soleimani, M., Afyuni, M., Hajabbasi, M.A., Nourbakhsh, F., Sabzalian, M.R., and Christensen, J.H. (2010). "Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses." *Chemosphere*, 81(9), 1084-1090.
29. Reilley, K.A., Banks, M.K., and Schwab, A.P. (1996). "Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Rhizosphere." *J. Environmental Quality*, 25(2), 212-219.
30. Maila, M.P., and Cloete, T.E. (2002). "Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic

- aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil.” *International Biodeterioration and Biodegradation*, 50(2), 107-113.
31. Smith, M.J., Flowers, T.H., Duncan, H.J., and Alder, J. (2006). “Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues.” *Environmental Pollution*, 141(3), 519-525.
 32. Cheema, S.A., Khan, M.I., Tang, X., Zhang, C., Shen, C., Malik, Z., Ali, S., Yang, J., Shen, K., Chen, X., and Chen, Y. (2009). “Enhancement of phenanthrene and pyrene degradation in rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*.)” *J. of Hazardous Materials*, 166(2), 1226-1231.
 33. Chaineau, C.H., Morel, J.L., and Oudot, J. (1997). “Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons.” *J. of Environmental. Quality*, 26(6), 1478-1483.
 34. Abedi Koupai, J., Ghaheri, E., Eslamian, S. S., and Hosseini, H. (2013). “Investigation the kinetic models of biological removal of petroleum contaminated soil around oil pipeline using ryegrass.” *J. of Water and Wastewater*, Vol. 25. No. 1 (89), 62-68. (In Persian).
 35. Liste, H.H., and Alexander, M. (2000). “Accumulation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere soil.” *Chemosphere*, 40(1), 11-14.
 36. Hutchinson, S.L., Banks, M.K., and Schwab, A.P. (2001). “Bioremediation and biodegradation. Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effect of inorganic fertilizer.” *J. of Environmental, Quality*, 30(2), 395-403.
 37. Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z., and Zhang, Z. (2009). “Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis Jalapa* L. in a greenhouse plot experiment.” *J. of Hazardous Materials*, 168(2), 1490-1496.
 38. Kaimi, E., Mukaidani, T., Miyoshi, S., and Tamaki, M. (2006). “Ryegrass enhancement of biodegradation in diesel-contaminated soil.” *Environmental and Experimental Botany*, 55(1), 110-119.
 39. Agamuthu, P., Abioye, O.P., and Abdul Aziz, A. (2010). “Phytoremediation of soil contaminated with used lubricating oil using *Jatropha curcas*.” *J. of Hazardous Materials*, 179(1), 891-894.
 40. Marin, J.A., Hernandez, T., and Garcia, C. (2005). “Bioremediation of oil refinery sludge by land farming in semiarid conditions: influence on microbial activity.” *Environmental Research*, 98(2), 185-195.
 41. Benyahia, F., Abdulkarim, M., Zekri, A., Chaalal, O., and Hasanain, H. (2005). “Bioremediation of crude oil contaminated soils: A black art or an engineering challenge?.” *Process Safety and Environmental Protection*, 83(4), 364-370.
 42. Diplock, E.E., Mardlin, D.P., Killham, K.S., and Paton, G.I. (2009). “Predicting bioremediation of hydrocarbons: Laboratory to field scale.” *Environmental Pollution*, 157(6), 1831-1840.
 43. Lin, T.C., Pan, P.T., and Cheng, S.S. (2010). “Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil.” *J. of Hazardous Materials*, 176(1), 27-34.
 44. 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* L.) planted in large pots under field exposure.” *Canadian J. of Soil Science*, 82(2), 147- 154.
 45. Gaskin, S.E., and Bentham, R.H. (2010). “Rhizoremediation of hydrocarbon contaminated soil using Australian native grasses.” *Science of the Total Environment*, 408(17), 3683-3688.
 46. Moreira, I.T.A., Oliveira, O.M.C., Triguís, J.A., Santos, A.M.P., Queiroz, A.F.S., Martins, C.M.S., Silva, C.S., and Jesus, R.S. (2011). “Phytoremediation using *Rizophora mangle* L. in mangrove sediments contaminated by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's).” *Microchemical Journal*, 99(2), 376-382.
 47. Tejeda-Agredanoa, M.C., Gallego, S., Vila, J., Grifoll, M., Ortega-Calvo, J.J., and Cantos, M. (2013). “Influence of the sunflower rhizosphere on the biodegradation of PAHs in soil.” *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 830-840.