

بررسی گیاه‌پالایی فلزات سنگین و هیدروکربن‌های نفت خام با استفاده از گیاه پریش (*Catharanthus roseus*)

مهری عسکری مهرآبادی*، فریبا امینی و پریسا ثابتی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶، اراک، ایران

چکیده

آلودگی نفت خام پدیده‌ای اجتناب‌ناپذیر در مناطق تولید و مصرف‌کننده نفت در سراسر جهان است که از خطای انسانی، تخلیه‌های تصادفی و منابع دیگر سرچشمه می‌گیرد. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی توانایی گیاه‌پالایی گیاه پریش در خاک‌های آلوده به نفت خام است. آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با غلظت‌های مختلف نفت خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد (حجمی/وزنی) در مرحله کشت گلخانه‌ای انجام شد. در انتهای یک دوره ۷۰ روزه، میزان حذف هیدروکربن‌های خاک اندازه‌گیری شد. مقادیر سرب، روی و نیکل در خاک و برگ گیاه توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری داده‌ها بر اساس آزمون دانکن با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. در غلظت‌های بالاتر از ۳ درصد هیچ رشدی مشاهده نشد. شاخص‌های رشد نظیر: ارتفاع ساقه و وزن تر و خشک ساقه در خاک آلوده به نفت خام (۰/۵ تا ۳ درصد) روند کاهشی را نشان دادند. نتایج، تجمع فلزات سنگین را در برگ گیاهان و کاهش آنها را در خاک نشان دادند. فلزات سنگین شامل روی، سرب و نیکل درون گیاه با افزایش غلظت‌های مختلف نفت خام افزایش یافتند. هیدروکربن‌های کل و فلزات سنگین شامل روی، سرب و نیکل در خاک آلوده کشت شده کاهش یافت. این مطالعه نشان می‌دهد که پریش قادر به رشد و زنده ماندن در غلظت‌های کم نفتی است و باعث کاهش آلاینده‌ها در خاک می‌شود. بر اساس این نتایج، گیاه پریش می‌تواند به عنوان یک گیاه‌پالای خاک‌های آلوده به سطوح پایین نفت خام انتخاب شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی نفتی، پریش، فلزات سنگین، گیاه‌پالایی، هیدروکربن

مقدمه

روز است که بیانگر مقیاس و حجم بالایی از استخراج، انتقال و پالایش و مصرف فرآورده‌های آن است. چنانچه فرض کنیم حداقل یک درصد از این حجم عظیم از طریق سایت‌های بهره‌برداری، نشت از خطوط

نفت خام منبع عمده انرژی در رشد اقتصادی- اجتماعی یک کشور محسوب می‌شود (Peng et al., 2009). تولید جهانی نفت خام تقریباً ۷۲ میلیون بشکه در

فوسفور قابل دسترس و کلسیم را کاهش می‌دهد که به موجب آن کاهش محصولات زراعی رخ می‌دهد (Odjegba؛ Chupakhina and Maslennikov, 2004) and Badejo, 2013). همچنین گیاهان و میکروب‌های خاک آلوده به نفت برای عناصر غذایی کم مصرف با یکدیگر رقابت می‌کنند که به سبب آن رشد گیاهان در چنین خاک‌هایی سرکوب می‌شود (Akujobi *et al.*, 2011). مهم‌ترین و رایج‌ترین نشانه‌های مشاهده شده در گیاهان آلوده با نفت شامل فرسایش موم، تجزیه کلروفیل، تغییرات مکانیسم روزنه‌ای، کاهش فتوسنتز و تنفس، افزایش تولید هورمون‌های گیاهی مربوط به تنش، تجمع مواد سمی یا محصولات فرعیشان در بافت‌های گیاهی، کاهش اندازه و تولید کمتر بیوماس (Bona *et al.*, 2011؛ Adenipekun *et al.*, 2008) است. گیاه پالایی فن آوری نوینی است که از گیاهان برای حذف آلاینده‌های محیطی مانند فلزات سنگین و ترکیبات آلی استفاده می‌شود (Gerhardt *et al.*, 2009). نخستین بار Adam و Duncan (۲۰۰۲) نقش گیاهان را در پالایش آلودگی هیدروکربن‌های نفتی مطرح نمودند. سطوح پایین آلودگی نفتی از طریق کشت گیاهان در خاک می‌تواند تجزیه شود و حاصلخیزی، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در اثر کشت گیاهان بهبود می‌یابد (Anoliefo *et al.*, 2006). یکی از نخستین گام‌ها در انتخاب گیاهان برای گیاه‌پالایی در مناطق گرمسیری، شناخت گونه‌هایی است که قادر به رشد و نمو در خاک آلوده با نفت هستند و سپس ارزیابی تأثیر گیاهان بر تجزیه هیدروکربن‌های نفت و مشتقات آنها است (Merkel *et al.*, 2004).

انتقال، پسماندهای حاصل از پالایش و تصاعد آنها به محیط اضافه گردند، چیزی حدود ۲۶۶ میلیون بشکه در سال است (Singh and Jain, 2003). نفت خام ترکیب پیچیده‌ای از هزاران ترکیب هیدروکربنی و غیرهیدروکربنی از جمله فلزات سنگین است که می‌توانند سرطان‌زا و جهش‌زا باشند (Dai *et al.*, 2011). برخی عناصر کمیاب از قبیل وانادیوم، نیکل، آهن، آلومینیوم، مس و برخی فلزات سنگین مانند سرب و کادمیوم در نفت خام موجود هستند (Odjegba and Badejo, 2013). این آلاینده‌ها می‌توانند به طور سطحی جذب ذرات خاک شده، به تدریج به غلظت آنها افزوده و همراه با جریان‌های سطحی و عمقی، به آب‌های سطحی و زیرزمینی وارد شوند و در نهایت به زنجیره غذایی گیاه، حیوان و انسان وارد شده، موجودات زنده را مسموم کنند (Rababah and Matsuzawa, 2002). نفت خام سبب چسبندگی و اتصال ذرات خاک شده و به دنبال سخت و غیرقابل نفوذ شدن خاک، زهکشی آب و انتشار اکسیژن را مختل می‌کند. آب‌گریزی بالای این ترکیبات موجب پیوستن آنها به ذرات خاک و سبب تشکیل رسوب شده و موجب کاهش دسترسی زیستی به این آلاینده‌ها جهت جذب زیستی می‌گردد (Luepromchai *et al.*, 2007). اختلالات خاک به دلیل تهویه ناقص ناشی از جایگزینی هوای خاک با نفت، فعالیت میکروارگانیزم‌های غیرهوازی، اختلال در توازن آب در سیستم خاک-گیاه، سمیت ناشی از سولفیدها و زیادی منگنز آزاد شده در تجزیه هیدروکربن‌ها است. این اختلالات به تغییرات خواص فیزیکی، مورفولوژیکی و شیمی خاک منجر می‌شود و نیترات،

گرمسیری در کاهش هیدروکربن‌های نفتی و برخی فلزات سنگین خاک آلوده به نفت‌خام از اهداف پژوهش حاضر است.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه پریش از مؤسسه تحقیقاتی پاکان بذر اصفهان و نفت‌خام از پالایشگاه سازند تهیه شد. بذرهای پریش ضد عفونی سطحی شده (Wang and Oyaizu, 2009) درون پتری دیش‌های محتوی محلول هو گلند در تاریکی با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. دانه‌رُست‌های سه روزه در عمق ۲ سانتی متری خاک، درون گلدان‌های محتوی خاک آلوده به نفت‌خام در غلظت ۰ درصد به عنوان شاهد، ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد (حجمی/وزنی) انتقال یافتند. گلدان‌های شاهد از همان خاک بدون افزودن نفت‌خام پُر شدند. پس از پوشاندن روی دانه‌رُست‌ها توسط خاک همان گلدان، آبیاری با ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول هو گلند (Hoagland and Arnon, 1950) صورت گرفت و گلدان‌ها در شرایط محیط در درجه دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در شب و ۲۸ درجه سانتیگراد در روز و فتوپریود ۱۲L/۱۲D قرار گرفتند. آبیاری هر هفته با توجه به نیاز گیاه، به میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول هو گلند صورت گرفت. آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. هر هفته ارتفاع بخش هوایی اندازه‌گیری شد. در پایان ۷۰ روز، برداشت نهایی انجام شد. ارتفاع بخش هوایی و وزن تر و خشک گیاهان ۷۰ روزه نیز اندازه‌گیری شد.

میزان هیدروکربن‌های کل (TPHs, Total Petroleum Hydrocarbons) در خاک آلوده به

پریش یا پروانش با نام علمی *Catharanthus roseus* از خانواده خرزهره امروزه به عنوان یک گیاه دارویی-زینتی در جهان مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه اغلب در مناطق معتدل و گرمسیری رشد می‌کند و به خشکی و گرما مقاوم است (Gilman and Howe, 2011). پریش دارای آلکالوئیدهای مهمی از جمله آجمالیسین، وین‌بلاستین و وین‌کریستین است (Kumar and Gupta, 2008). آجمالیسین در درمان فشارخون بالا کاربرد دارد (Jaleel et al., 2006). وین‌بلاستین و وین‌کریستین نیز از داروهای مهم مورد مصرف در شیمی‌درمانی و درمان انواع مختلف سرطان هستند (Filippini et al., 2003). پژوهشگران معتقدند که مقدار آلکالوئیدهای گیاه پریش تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌یابد (Jaleel et al., 2006؛ Misra and Gupta, 2006؛ Amdoun et al., 2009). ضمن این که برخی از گیاهان این خانواده و گیاهان تولیدکننده آلکالوئید به عنوان گونه مقاوم به آلاینده‌های نفتی معرفی شده‌اند (Anoliefo et al., 2006). از طرفی ایران یکی از کشورهای نفت‌خیز جهان است که همواره در معرض این نوع آلاینده محیطی قرار دارد (Celik et al., 2005). بیشتر مخازن نفت‌خام و پالایشگاه‌های نفت ایران در مناطقی با فعالیت‌های کشاورزی و مناطق شهری قرار گرفته است (Besalatpour et al., 2008). شناسایی گیاهانی که در پالایش آلودگی‌های نفتی نقش دارند و مطالعه شرایطی که در بهینه عمل کردن این مجموعه مؤثر هستند، می‌تواند راهکارهایی جهت حذف این آلودگی‌ها از خاک این مناطق باشد (Celik et al., 2005). بررسی توانایی گیاه پریش به عنوان یک گیاه دارویی مناطق

و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد، سپس ۵ تا ۶ ساعت در آون ۹۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از خنک شدن، نمونه‌ها صاف و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شدند. محلول‌های استاندارد نیترات‌روی ($N_2O_6Zn \cdot 4H_2O$)، نیترات نیکل ($Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) و نیترات سرب (N_2O_6Pb) تهیه شدند و جذب آنها و نمونه‌ها در دستگاه جذب اتمی خوانده شد. نمودار استاندارد بر اساس جذب رسم و رابطه خطی محلول‌ها به دست آمد (Celik et al., 2005).

مقادیر عناصر سرب، نیکل و روی در خاک پیش از آغاز کشت (بلافاصله پس از آلوده شدن خاک) و همچنین در پایان دوره ۷۰ روزه در خاک کشت‌شده اندازه‌گیری شد. اختلاف میزان عناصر فوق درون خاک در ابتدا و انتهای دوره محاسبه شد. ۲ گرم خاک آلوده به نفت خام را پس از خشک و الک کردن (۲ میلی متری) با ۲/۵ میلی لیتر نیتریک اسید غلیظ و ۷/۵ میلی لیتر کلریدریک اسید غلیظ به مدت یک شب به حال خود گذاشته و پس از آن به دمای ۷۰-۸۰ درجه سانتیگراد منتقل نموده و در نهایت پس از ته‌نشینی رسوبات با نیتریک اسید ۱ درصد به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول‌های استاندارد نیترات‌روی، نیترات نیکل و نیترات سرب مانند مرحله قبل تهیه شدند و جذب آنها به همراه نمونه‌ها توسط دستگاه جذب اتمی خوانده شد. نمودار استاندارد بر اساس جذب رسم و رابطه خطی محلول‌ها به دست آمد (Celik et al., 2005).

آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون‌های دانکن انجام شده است. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excell استفاده گردید.

سطوح مختلف نفت خام پیش از آغاز دوره کشت (بلافاصله پس از آلوده شدن خاک در شروع کاشت) و همچنین بعد از دوره ۷۰ روزه کشت در خاک کشت شده با پریش و کشت نشده اندازه‌گیری شد. اختلاف میزان هیدروکربن‌های کل خاک در ابتدا و انتهای دوره، به عنوان میزان حذف هیدروکربن‌ها از خاک به تنهایی (در خاک‌های کشت نشده) یا میزان حذف هیدروکربن‌ها از خاک کشت شده در نظر گرفته شد. برای جداسازی به مقدار یک گرم خاک، ۱۰ میلی لیتر حلال دی کلرومتان اضافه شد. مخلوط به شدت تکان داده شد تا نفت موجود در خاک توسط حلال جدا شود. سپس مخلوط به مدت ۵ دقیقه با دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفیوژ گردید تا خاک از حلال جدا شود. از محلول رویی ۱ میلی لیتر جدا شد، به ظروفی که از قبل وزن شده بود منتقل و اجازه داده شد که حلال در مجاورت هوا به مدت ۴۸ ساعت تبخیر شود، سپس ظرف دوباره وزن گردید که تفاوت وزن آن با وزن اولیه ظرف خالی، مشخص‌کننده مقدار TPHs در خاک بود که بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم محاسبه گردید. مقدار هیدروکربن‌های کل نفت TPHs هر نمونه با مقدار TPHs خاک در زمان صفر مقایسه و کاهش آن به عنوان میزان حذف هیدروکربن‌ها توسط خاک به تنهایی یا گیاه و خاک مشخص شد.

اندازه‌گیری عناصر سنگین (روی، سرب و نیکل) در برگ گیاه و در خاک توسط دستگاه جذب اتمی (مدل Shimadzu AA-680، شرکت Shimadzu، ژاپن) انجام شد. اندازه‌گیری عناصر در برگ گیاه به منظور ارزیابی گیاه در انباشت عناصر فوق انجام شد. به ۰/۲ گرم برگ خشک گیاهان، ۴ میلی لیتر نیتریک اسید ۶۵ درصد اضافه

نتایج

در گلدان‌های آلوده به ۴ درصد نفت‌خام هیچ گیاهی رشد نکرد، بنابراین غلظت فوق، غلظت کشنده نفت‌خام برای گیاه پریوش در نظر گرفته شد. آنالیز آماری داده‌ها، اثر معنی‌دار (سطح ۰/۰۱) تیمار نفت‌خام را بر ارتفاع بخش هوایی و وزن تر و خشک ساقه گیاهان تحت تیمار نشان می‌دهد (جدول ۱). پس از ۷۰ روز، شاهد و تیمار ۳ درصد به ترتیب با ارتفاع ۷/۳۳ و ۱/۸۷ سانتی‌متر بلندترین و کوتاه‌ترین گیاهان بودند. کاهش ارتفاع گیاهان ۷۰ روزه در تیمارهای ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نسبت به شاهد به ترتیب ۳۱/۷۹، ۷۰/۳۹، ۷۳/۶۷ و ۷۴/۴۹ درصد اندازه‌گیری شد. بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ درصد نفت‌خام تغییر معنی‌داری در ارتفاع گیاه مشاهده نشد. تا روز سی و پنجم اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمار ۰/۵ درصد مشاهده نشد (جدول ۲). مطابق جدول ۲ در طول زمان ارتفاع بخش هوایی در تمامی تیمارهای نفتی نیز رشد صعودی داشته است اما در تیمارهای نفتی، رشد با تأخیر و کاهش شدت رشد نسبت به شاهد همراه است. به طوری که گیاهان ۷۰ روزه درون خاک آلوده به ۰/۵ درصد نفت‌خام دارای ارتفاعی تقریباً برابر گیاهان شاهد ۵۶ روزه داشتند. بیشترین و کمترین وزن تر ساقه به ترتیب ۵۳/۳۳ و ۷ میلی‌گرم مربوط به گیاهان موجود در گلدان‌های شاهد و تیمار ۳ درصد نفت‌خام بود. وزن تر ساقه در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نفت‌خام به ترتیب ۸۵/۶۱، ۸۵/۱۳، ۸۶/۱۸ و ۸۶/۸۷ درصد کاهش نسبت به شاهد را نشان می‌دهد. بیشترین

و کمترین وزن خشک ساقه نیز مربوط به گیاهان شاهد و تیمار ۳ درصد نفت‌خام به ترتیب ۶/۲ و ۰/۹ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. وزن خشک ساقه نیز در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نفت‌خام به ترتیب ۱۰/۷۵، ۸۱/۷۲، ۸۴/۴۱ و ۸۵/۴۸ درصد کاهش نسبت به شاهد نشان دادند.

جدول ۳ درصد کاهش مقدار هیدروکربن‌های کل خاک آلوده به نفت‌خام را در خاک کشت‌نشده و کشت‌شده پس از یک دوره ۷۰ روزه نشان می‌دهد. در گلدان‌های شاهد که به نفت آلوده نشده‌اند هیچ هیدروکربنی نه در ابتدا و نه در انتهای دوره مشاهده نشده است یعنی گلدان‌های شاهد فاقد هیدروکربن بوده‌اند. در ابتدای دوره با افزایش سطح نفت‌خام مقدار هیدروکربن‌های خاک افزایش یافته است. آنالیز آماری داده‌های فوق که حاصل اختلاف مقادیر TPHs موجود در خاک‌های آلوده به نفت‌خام در ابتدا و انتهای دوره ۷۰ روزه است اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0/01$) را بین داده‌ها نشان می‌دهد. یعنی بین میزان درصد برداشت هیدروکربن‌های خاک آلوده در خاک کشت‌شده و خاک کشت‌نشده اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود (جدول ۴). مطابق جدول ۳ کشت گیاه پریوش برداشت هیدروکربن‌های کل را به طور معنی‌داری افزایش داده است. میزان کاهش TPHs با افزایش غلظت نفت‌خام بیشتر شده است. بیشترین مقدار کاهش TPHs در غلظت ۳ درصد (۸۲۲/۶۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک کشت‌شده و کمترین مقدار (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در خاک کشت‌نشده

نمودند، در حالی که در همین مدت میزان حذف در خاک کشت نشده آلوده به ۰/۵ درصد نفت خام تنها ۱/۶۱ درصد کل هیدروکربن های خاک بوده است. همچنین، در خاک آلوده به ۳ درصد نفت خام در صورت کشت گیاه میزان حذف و برداشت هیدروکربن ها ۳۶/۵۹ درصد و در صورت عدم کشت گیاه تنها ۳/۳۸ درصد اندازه گیری شده است.

و آلوده به غلظت ۰/۵ درصد نفت مشاهده می شود. مقادیر کاهش TPHs خاک در غلظت های ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد کشت شده نسبت به همان غلظت ها در خاک کشت نشده به ترتیب ۱۸/۵، ۱۰/۹۸، ۹/۸۸ و ۶/۰۹ برابر افزایش نشان می دهد. گیاهان پریش در خاک آلوده به ۰/۵ درصد نفت خام پس از ۷۰ روز ۲۹/۷۳ درصد هیدروکربن های خاک را حذف

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس اثر سطوح مختلف نفت خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۳ درصد نفت خام حجمی/وزنی) بر شاخص های رشد ساقه، غلظت فلزات سنگین درون برگ گیاه پریش و درصد کاهش مقدار فلزات سنگین در خاک آلوده به سطوح مختلف نفت خام. ** معنی دار در سطح ۰/۰۱.

منابع تغییر	شاخص رشد ساقه			غلظت عنصر درون برگ			درصد کاهش عناصر		
	ارتفاع گیاه	وزن خشک	وزن تر	روی	نیکل	سرب	روی	سرب	نیکل
اثر نفت خام	۲۱۰/۰۹**	۴۱۳/۵۵**	۱۳۲/۴۷**	۶۶/۸**	۳۱۶/۵**	۶۱/۰۵**	۱۲/۹۷۵**	۱۰۴/۴۴۲**	۸۴/۳۵۸**

جدول ۲- مقایسه میانگین های اثر غلظت های مختلف نفت خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نفت خام حجمی/وزنی) بر طول ساقه (سانتی متر) و وزن تر و خشک ساقه (گرم) گیاه پریش. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر اختلاف معنی دار ($P \leq 0.01$) طبق آزمون دانکن را نشان می دهد. مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

شاخص	غلظت های مختلف درصد نفت خام در خاک					
	سن (روز)	۰	۰/۵	۱	۲	۳
ارتفاع بخش هوایی (سانتی متر)	۷	۰/۶۶ ^a ±۰/۱۴	۰/۶ ^{ab} ±۰/۱	۰/۵۳ ^{abc} ±۰/۰۶	۰/۴۳ ^{bc} ±۰/۰۶	۰/۳۷ ^c ±۰/۰۶
	۱۴	۱/۳ ^a ±۰/۱۵	۱/۱ ^b ±۰/۱	۰/۷ ^c ±۰/۱	۰/۶ ^c ±۰/۱	۰/۵۳ ^c ±۰/۰۶
	۲۱	۱/۹ ^a ±۰/۴	۱/۷۷ ^a ±۰/۱۵	۰/۹۷ ^b ±۰/۱۵	۰/۷ ^b ±۰	۰/۶۳ ^b ±۰/۰۵
	۲۸	۲/۳ ^a ±۰/۵۶	۲/۱ ^a ±۰/۲	۱/۲۳ ^b ±۰/۲۹	۰/۸۷ ^b ±۰/۰۶	۰/۸ ^b ±۰/۱
	۳۵	۲/۹ ^a ±۰/۱	۲/۵۶ ^a ±۰/۱۱	۱/۴ ^b ±۰/۳۶	۱/۱ ^b ±۰/۱	۱/۰۷ ^b ±۰/۱۱
	۴۲	۳/۶۳ ^a ±۰/۲۳	۲/۹۳ ^b ±۰/۰۶	۱/۵۳ ^c ±۰/۳۱	۱/۲۷ ^c ±۰/۰۶	۱/۲ ^c ±۰/۱
	۴۹	۴/۵۷ ^a ±۰/۵۱	۳/۴۷ ^b ±۰/۰۵	۱/۷۳ ^c ±۰/۴۷	۱/۴۷ ^c ±۰/۰۵	۱/۲ ^c ±۰/۰۹
	۵۶	۵/۴ ^a ±۰/۳۶	۳/۸ ^b ±۰/۱	۱/۸۸ ^c ±۰/۳۲	۱/۶ ^c ±۰/۱	۱/۵۸ ^c ±۰/۱۱
	۶۳	۶/۱۱ ^a ±۰/۳۱	۴/۵۳ ^b ±۰/۴	۲ ^c ±۰/۳۶	۱/۷۳ ^c ±۰/۰۶	۱/۶۶ ^c ±۰/۱
	۷۰	۷/۳۳ ^a ±۰/۲۹	۵ ^b ±۰/۵	۲/۱۷ ^c ±۰/۲۵	۱/۹۳ ^c ±۰/۰۶	۱/۸۷ ^c ±۰/۱۵
وزن تر ساقه (میلی گرم)	۷۰	۵۳/۳۳ ^a ±۵/۷۷	۴۵ ^b ±۵	۷/۹۳ ^c ±۰/۶۹	۷/۳۶ ^c ±۰/۵۶	۷ ^c ±۰/۹
وزن خشک ساقه (میلی گرم)	۷۰	۶/۲ ^a ±۰/۳	۵/۵۳ ^b ±۰/۳۸	۱/۱۳ ^c ±۰/۰۵	۰/۹۷ ^c ±۰/۱۲	۰/۹ ^c ±۰/۱

جدول ۳- مقایسه درصد کاهش هیدروکربن‌های کل TPHs (میلی گرم بر کیلوگرم خاک) از خاک‌های آلوده به غلظت‌های مختلف نفت‌خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ نفت‌خام حجمی/وزنی) در خاک کشت شده (+Plant) و خاک کشت نشده (-Plant) طی یک دوره ۷۰ روزه. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0/01$) طبق آزمون دانکن است.

هیدروکربن‌های کل نفت‌خام خاک بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم خاک			تیمار نفت و کشت گیاه
درصد کاهش TPHs	انتهای دوره	ابتدای دوره	
ⁱ	۰	۰	Plant + شاهد
ⁱ	۰	۰	Plant - شاهد
^d ۲۹/۷۲ \pm ۰/۷۶	۳۳/۲۶۲	۳۷۳/۳۳	Plant + ۰/۵ درصد
^h ۱/۶۰ \pm ۰/۲۷	۳۶۷/۳۳	۳۷۳/۳۳	Plant - ۰/۵ درصد
^c ۳۰/۴۸ \pm ۰/۱۱	۵۱۷/۶۷	۷۴۴/۶۷	Plant + ۱ درصد
^e ۲/۷۷ \pm ۰/۲۱	۷۲۴	۷۴۴/۶۷	Plant - ۱ درصد
^b ۳۳/۴۷ \pm ۰/۰۸۶	۹۹۵/۳۳	۱۴۹۶/۳۳	Plant + ۲ درصد
^f ۳/۵۶ \pm ۰/۳۳	۱۴۴۵/۶۶	۱۴۹۶/۳۳	Plant - ۲ درصد
^a ۳۶/۵۸ \pm ۰/۱۲	۱۴۲۵/۶۶	۲۲۴۸/۳۳	Plant + ۳ درصد
^e ۶ \pm ۰/۱۱	۲۱۱۳/۳۳	۲۲۴۸/۳۳	Plant - ۳ درصد

جدول ۴- جدول آنالیز واریانس تأثیر سطوح مختلف نفت‌خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴ درصد حجمی/وزنی) و تأثیر کاشت گیاه پریوش بر درصد کاهش هیدروکربن‌های کل خاک آلوده (** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱).

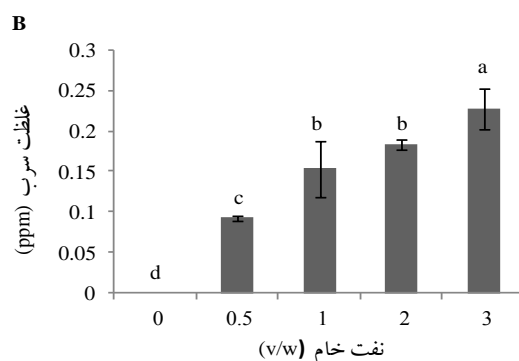
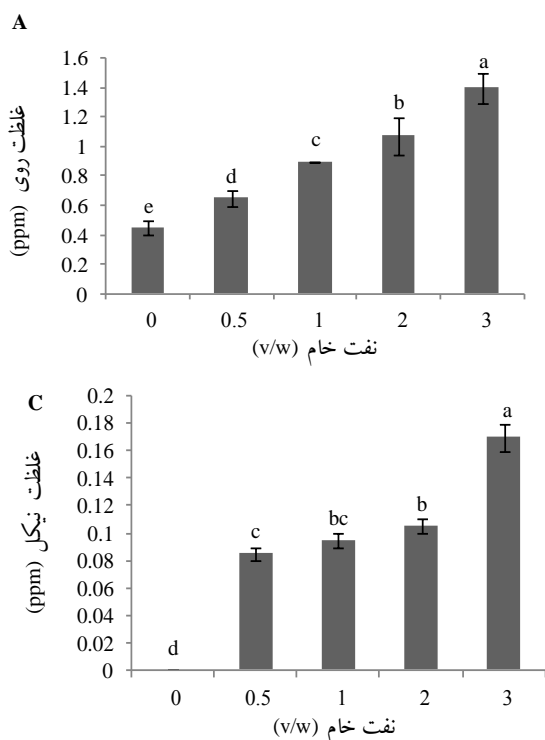
درصد کاهش TPHs	منابع تغییر
۴۸۶۶/۵۱**	اثر نفت‌خام
۴۷۳۱۱/۴۹**	اثر کشت گیاه
۲۹۸۲/۱۸**	اثر متقابل کشت گیاه و نفت

شاهد ۴۴/۴۴، ۱۰۰، ۱۳۸/۸۸ و ۲۱۱/۱۱ درصد افزایش را نشان می‌دهد. در برگ گیاهان شاهد که نفت‌خام دریافت نکردند، هیچ نیکل و سربی مشاهده نشد. بیشترین مقدار نیکل (۰/۱۷ ppm) و سرب (۰/۲۲۶ ppm) در برگ گیاهان تحت غلظت ۳ درصد و کمترین مقدار سرب (۰/۰۹ ppm) و نیکل (۰/۰۸۵ ppm) در برگ گیاهان تحت تیمار غلظت ۰/۵ درصد نفت‌خام مشاهده شد. مقدار

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری مقدار روی، سرب و نیکل درون برگ تحت تنش نفت‌خام اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ نشان می‌دهد (جدول ۱). بیشترین مقدار روی (۱/۴ ppm) در برگ گیاهان تحت تیمار غلظت ۳ درصد و کمترین مقدار (۰/۴۵ ppm) در شاهد مشاهده شد. مقدار عنصر روی در برگ گیاهان تحت غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نفت نسبت به

۱۵۱/۱۱ درصد افزایش نشان می‌دهد. در فلزات سنگین اندازه‌گیری شده سرب بیشترین تجمع را در برگ گیاه پریش نشان داد و نیکل کمترین تجمع را نشان می‌دهد (شکل ۱).

نیکل در غلظت‌های مختلف نفت خام نسبت به تیمار نفتی ۰/۵ درصد به ترتیب ۱۱/۷۶، ۲۳/۵۲ و ۱۰۰ درصد افزایش داشت. مقدار سرب برگ در غلظت‌های مختلف نفت خام نسبت به تیمار نفتی ۰/۵ درصد به ترتیب ۷۰، ۱۰۳/۳۳ و



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف نفت خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نفت خام حجمی/وزنی) بر میزان فلزات سنگین. (A) روی، (B) سرب و (C) نیکل (ppm) در برگ گیاه پریش ۷۰ روزه. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0/01$ طبق آزمون دانکن است.

به طوری که بیشترین و کمترین غلظت عنصر روی در ابتدای دوره به ترتیب ۶/۰۵ ppm و ۰/۹۵ ppm در خاک آلوده به ۳ درصد نفت خام و خاک شاهد اندازه‌گیری شد. در پایان دوره ۷۰ روزه نیز بیشترین حذف و برداشت عنصر روی از خاک در غلظت ۳ درصد نفت خام با ۴۵/۴۷ درصد و کمترین مقدار حذف در شاهد با ۲۸/۹۷ درصد مشاهده شد. مقادیر حذف عنصر روی خاک در غلظت‌های مختلف ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد نفت خام نسبت به شاهد به ترتیب افزایش ۴/۰۴، ۵/۰، ۶/۰ و ۹/۸۲ برابری مشاهده می‌شود. درصد حذف عنصر روی بین گیاهان شاهد و تحت تیمار ۰/۵ نفت

عناصر روی، سرب و نیکل موجود در خاک در ابتدای دوره (بلافاصله پس از آلوده ساختن خاک) و انتهای دوره در خاک گلدان‌های شاهد و تیمارهای ۰/۵ تا ۳ درصد نفت خام کشت شده اندازه‌گیری شدند و درصد کاهش عناصر فوق از خاک آلوده بررسی گردید. آنالیز آماری داده‌های حاصل از درصد حذف عناصر روی، سرب و نیکل خاک در غلظت‌های مختلف نفت خام اختلاف معنی‌داری را در سطح ۰/۰۱ نشان می‌دهد (جدول ۱). با افزایش غلظت نفت خام مقدار هر سه عنصر روی، سرب و نیکل موجود در خاک در ابتدای دوره، افزایش را نشان می‌دهند،

گلدان‌های تحت تیمار ۳ درصد نفت‌خام با ۴۱/۶۴ درصد و کمترین مقدار در خاک گلدان‌های تحت تیمار نفتی ۰/۵ درصد با ۲۸/۹۶ درصد کاهش نسبت به ابتدای دوره مشاهده می‌شود. مقدار حذف سرب خاک در غلظت‌های مختلف نفت‌خام نسبت به غلظت ۰/۵ درصد به ترتیب ۱/۷۱، ۲/۶۶ و ۳/۱۴ برابر شده است (جدول ۵).

اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (جدول ۵). بیشترین مقدار عنصر سرب (۱/۶ ppm) در خاک آلوده به ۳ درصد نفت‌خام و کمترین آن (۰/۷۵ ppm) در خاک آلوده به ۰/۵ درصد در ابتدای دوره اندازه‌گیری شد. در خاک گلدان‌های شاهد در ابتدا و انتهای دوره هیچ سربی وجود نداشت. بیشترین مقدار حذف سرب در

جدول ۵- مقادیر اولیه و درصد کاهش فلزات روی، سرب و نیکل (ppm) در خاک آلوده به غلظت‌های مختلف نفت‌خام (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد حجمی/وزنی) طی یک دوره ۷۰ روزه بعد از کشت گیاه پریش. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.01$ طبق آزمون دانکن است. مقایسه برای هر عنصر جداگانه انجام شده است.

تیمار نفت	عنصر روی در خاک (ppm)		عنصر سرب در خاک (ppm)		عنصر نیکل در خاک (ppm)	
	مقدار اولیه	درصد کاهش	مقدار اولیه	درصد کاهش	مقدار اولیه	درصد کاهش
شاهد	۰/۹۵ \pm ۰/۰۲	۲۸/۹۷ \pm ۳/۸	۰/۷۵ \pm ۰/۰۸	۲۸/۹۶ \pm ۴/۱۷	۱/۱۵ \pm ۰/۰۴	۲۳/۲۸ \pm ۳/۴۸
۰/۵	۳/۷۸ \pm ۰/۰۵	۲۹/۷۲ \pm ۴/۲۳	۱/۰۵ \pm ۰/۰۲	۳/۲۰ \pm ۳۵/۱۸	۲/۴۶ \pm ۰/۰۴	۳۱/۱۷ \pm ۳/۷۴
۱	۴/۳ \pm ۰/۰۵	۳۲/۵۱ \pm ۲/۷۳	۱/۴ \pm ۰/۰۲	۴۰/۱۷ \pm ۳/۲۲	۳/۰۸ \pm ۰/۰۶	۳۲/۴۰ \pm ۱/۸۷
۲	۴/۷۵ \pm ۰/۰۳	۳۶/۴۷ \pm ۳/۰۴	۱/۶ \pm ۰/۰۷	۴۱/۶۴ \pm ۱/۹۱	۴/۰۳ \pm ۰/۱۱	۳۳/۸۷ \pm ۲/۳۷

درصد به ترتیب ۲/۹۲، ۳/۸۴ و ۵/۲۳ برابر افزایش نشان می‌دهد. با افزایش غلظت نفت موجود در خاک، درصد حذف روی، سرب و نیکل افزایش معنی‌داری مشاهده می‌شود (جدول ۵).

بحث

در پژوهش حاضر، کاهش ارتفاع و وزن تر و خشک ساقه به موازات افزایش غلظت نفت خام مشاهده گردید. مشابه کاهش رشد گیاه *Phaseolus vulgaris* در خاک تیمار شده با ۱ تا ۱۰ درصد نفت (Nwoko et al., 2007) و همچنین کاهش وزن تر و خشک ساقه اقاچیا که متناسب با افزایش غلظت نفت خام موجود در خاک گزارش شده است (Askary et al., 2011a). اثر

در ابتدای دوره، بیشترین و کمترین مقدار عنصر نیکل به ترتیب ۴/۰۳ ppm و ۱/۱۵ ppm در خاک آلوده به ۳ و ۰/۵ درصد نفت‌خام اندازه‌گیری شد. همانند سرب در خاک گلدان‌های شاهد در ابتدا و انتهای دوره هیچ نیکلی وجود نداشت. بیشترین میزان حذف نیکل از خاک آلوده به غلظت ۳ درصد (۱/۳۷ ppm) با ۳۳/۸۷ درصد کاهش نیکل نسبت به ابتدای دوره کشت مشاهده می‌شود. کمترین مقدار حذف و برداشت نیکل (۰/۲۶ ppm) از خاک آلوده به غلظت ۰/۵ درصد نفت خام رخ داد که درصد برداشت نیکل ۲۳/۲۸ درصد نسبت به مقدار نیکل موجود در خاک در ابتدای دوره است. مقدار کاهش نیکل خاک در غلظت‌های مختلف نفت‌خام نسبت به غلظت ۰/۵

و فعال‌تر از خاک‌های کشت نشده است (Mueller and Shann, 2006). گیاهان با تجمع و انباشت فلزات سنگین (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007) و با تغییر دادن شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک و افزایش تهویه و فراهم کردن اکسیژن جهت تجزیه ترکیبات نفتی در کاهش آلودگی‌های زیست محیطی مؤثر هستند (Shirdam *et al.*, 2008).

در مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار هیدروکربن‌های نفت خام در خاک کشت شده (۲۹/۷ تا ۳۶/۶ درصد در خاک آلوده به ۰/۵ تا ۳ درصد نفت) در مقایسه با خاک کشت نشده (۱/۶ تا ۶ درصد در همان تیمارهای نفتی) که به مدت ۷۰ روز در محیط آزمایشگاه نگهداری شده مشاهده می‌شود. افزایش تجزیه هیدروکربن‌های نفت در خاکی که گیاه در آن کاشته شده است توسط پژوهشگران متعدد گزارش شده است (Rosa *et al.*, 2005؛ Muratova *et al.*, 2003؛ Kechavarzi *et al.*, 2007). بر اساس مطالعات Gunther و همکاران (۱۹۹۶) کشت رای‌گراس پس از یک دوره ۲۲ هفته‌ای، غلظت هیدروکربن‌های خاک را از ۴۳۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به کمتر از ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک تغییر (۹۷ درصد کاهش) داد در حالی که در خاک‌های بدون گیاه فقط ۷۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش (۸۲ درصد) صورت گرفت (Gunther *et al.*, 1996). مشابه نتایج بررسی تأثیر آلودگی نفتی بر گیاهان فستوکا و ذرت که نشان‌دهنده کاهش میزان هیدروکربن کل در همه تیمارها بود. بیشترین برداشت هیدروکربن در گیاه فستوکا به میزان ۹۶/۳ درصد بود (Daryabeigi Zand *et al.*, 2010). برخی گیاهان هیدروکربن‌های نفتی را از طریق ریشه‌ها

منفی‌ترکیبات نفت خام می‌تواند ناشی از عدم نفوذپذیری هیدروکربن‌های نفت، عدم حرکت مواد غذایی عمدتاً نیتروژن یا اثر ممانعت‌کننده برخی ترکیبات حلقوی نفت یعنی آروماتیک‌ها باشد. ترکیبات آلیفاتیک کوچک، آروماتیک، نفتالیک و شبه فنولی موجود در نفت خام سبب کاهش تنفس، تبخیر، فتوسنتز و پاسخ هورمونی به تنش می‌شوند (Ogbo, 2009). نفت خام یک لایه آب‌گریز روی ریشه تشکیل می‌دهد که جذب آب و مواد غذایی را محدود می‌کند (Quinones-Aquilar *et al.*, 2003). آلودگی نفتی مانع از تبادل طبیعی اکسیژن بین خاک و جو به علت خواص آب‌گریز نفت می‌شود (Njoku *et al.*, 2009) و شرایط بد خاک را برای رشد گیاه ایجاد می‌کند که ناشی از کاهش سطح مواد غذایی در دسترس گیاه یا افزایش در حد سمی عناصری مثل آهن و روی است (Omosun *et al.*, 2008).

پالایش آلودگی‌های محیطی بر پایه و اساس گیاه یک تکنولوژی نسبتاً جدید، کارآمد و دوست‌دار محیط زیست است که می‌تواند جهت خروج بسیاری از آلاینده‌ها مثل آلودگی هیدروکربن‌ها و فلزات سنگین نویدبخش باشد (Daryabeigi Zand *et al.*, 2010؛ Qixing *et al.*, 2011). آلودگی‌های آلی سهم مهم و بزرگی از آلاینده‌های خاک را تشکیل می‌دهند (Daryabeigi Zand *et al.*, 2010). خروج و حذف فلزات سنگین و هیدروکربن‌های نفت در خاک، اغلب به میکروارگانیزم‌های زنده ریزوسفر که تحت تأثیر ترشحات ریشه گیاهان قرار دارند نسبت داده می‌شود (Joner *et al.*, 2004). پژوهش‌های مختلف نشان داده است که جمعیت میکروبی خاک‌های کشت شده بیشتر

تحریک رشد و فعالیت تجزیه میکروارگانسیم‌ها در ریزوسفر است (Ogbo, 2009). در مطالعه Shahriari و همکاران (۲۰۰۶) بر تأثیر کشت مخلوط فستوکا (*Festuca arundinaceu*) و یونجه در مدت زمان ۱۲۰ روز، بر کاهش آلودگی نفت‌خام سبک در خاک‌های آلوده به غلظت‌های مختلف نفت‌خام (۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ درصد) مشخص شد که حضور گیاه توانسته است در تجزیه‌زیستی نفت مؤثرتر باشد. این تأثیر بیشتر در نمونه‌هایی که غلظت نفت در آنها کمتر از ۵ درصد بود با بازدهی بهتری انجام شد. با توجه به کاهش بیشتر نفت در نمونه‌ها در ۳۰ روز اول نسبت به روزهای ۶۰ و ۱۲۰، Shahriari و همکاران (۲۰۰۶) چنین پیشنهاد کردند که عامل تبخیر ترکیبات فرار موجود در نفت و تجزیه‌زیستی دو عاملی بودند که سبب کاهش نفت در ۳۰ روز اول شده‌اند ولی با تبخیر مواد فرار، عامل تبخیر در روزهای ۶۰ و ۱۲۰ آنچنان مؤثر نبوده و تجزیه‌زیستی عامل اصلی کاهش نفت از خاک بوده است.

در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار انباشت و تجمع فلزات سنگین روی (۱/۴ ppm)، نیکل (۰/۱۷ ppm) و سرب (۰/۲۲۶ ppm) در برگ گیاهان تحت غلظت ۳ درصد نفت‌خام مشاهده شد. در فلزات سنگین اندازه‌گیری شده، روی بیشترین و نیکل کمترین تجمع را در برگ گیاه پریوش نشان می‌دهند. آلودگی فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی ممکن است موجب بی‌نظمی در ساختار خاک، دخالت در رشد گیاه و حتی آسیب به سلامت انسان از طریق ورود به زنجیره غذایی گردد (Lee et al., 2006). به دلیل سمیت بالقوه و مقاومت زیاد فلزات، خاک‌هایی که آلوده به چنین عناصری هستند به عنوان یک مشکل محیطی بزرگ

به وسیله آب آبیاری جذب و ممکن است آنها را در مقادیر اندکی در ریشه یا ساقه انباشت سازند یا وارد فرآیندهای متابولیکی گیاه می‌کنند (Durmishidze, 1977). به طور کلی، حضور پوشش گیاهی می‌تواند از طریق افزایش قابلیت دسترسی زیستی هیدروکربن‌ها، ترشحات ریشه و تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده هیدروکربن‌های نفتی در خاک و همچنین بهبود خواص فیزیکی خاک، سبب افزایش تخریب این آلاینده‌های آلی در خاک شود. کاهش غلظت هیدروکربن‌ها در خاک می‌تواند به دلیل فعالیت میکروارگانسیم‌های ریزوسفر یا در اثر تغییر ترشحات ریشه طی فرایند گیاه‌پالایی یا تجزیه‌زیستی باشد (Besalatpour et al., 2008)، در واقع ترشحات ریشه گیاه عموماً شامل آنزیم‌های زیادی مانند پراکسیدازها، لاکتازها و دی‌هالوژنازها است که ممکن است الگوی تجزیه ترکیبات آلی در محیط ریشه را تغییر دهند (Besalatpour et al., 2008). گیاهان و ریشه‌های آنها می‌توانند به طور غیرمستقیم از طریق تغییر دادن شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک و افزایش تهویه و فراهم کردن اکسیژن جهت تجزیه ترکیبات نفتی مؤثر باشند (Shirdam et al., 2008). در پژوهش Alikani و همکاران (۲۰۱۱) سه گیاه جو، ماش و لوبیا از دو خانواده‌ی گراس و لگومینه انتخاب و در خاک آلوده اطراف پالایشگاه با غلظت ۲۷۶۶۶/۶۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم TPH و غیرآلوده کشت گردیدند. نتایج نشان داده است که حداکثر نرخ پالایش مربوط به گیاه جو بود که میزان آلودگی را تا ۴۵/۷۸ درصد کاهش داد. محققان معتقدند مسؤول بیشترین تجزیه هیدروکربن‌های نفت در خاک کشت‌شده با گیاهان،

گیاه شده و همانند کبالت می‌تواند جایگزین فلزات سنگین در مراکز فیزیولوژیکی مهم شود (Verma *et al.*, 2007). در آلودگی نفت‌خام جذب فلزات سنگین (سرب و نیکل) با افزایش سطح آلودگی نفت‌خام در *Arachis hypogea* افزایش را نشان داد (Ogbuehi *et al.*, 2011). فلزات سنگین با اختلال در فتوسنتز، تنفس، کاهش کلروفیل و کاروتنوئیدها و متابولیسم نیتروژن در گیاهان به کاهش رشد منجر می‌شوند (Gouia *et al.*, 2001؛ Malizia *et al.*, 2012). احتمال دارد یکی از دلایل عدم بقای پریش در غلظت ۴ درصد به بالای نفت، غلظت بالای سرب موجود در نفت و تجمع بیش از حد آن در گیاه باشد. بر اساس پژوهش حاضر، غلظت فلزات سنگین بررسی شده (نیکل، سرب و روی) در برگ از حد آستانه تعریف شده برای گیاهان بیش‌انباشتگر کمتر است. نتایجی مشابه توسط Zoufan و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است. آنها بیان کردند که با وجودی که گیاه علفی *Taraxacum kotschy* و درختان *Conocarpus erectus* و *Eucalyptus camaldulensis* بیش‌انباشتگر نیستند اما با توجه به تغلیظ زیستی عناصر در برگ، توانایی تجمع و انباشت فلزات مطالعه شده را در بخش هوایی خود دارند.

در این مطالعه، مقدار فلزات سنگین در خاک آلوده به نفت خام، پس از یک دوره کشت ۷۰ روزه، کاهش معنی‌داری را نشان دادند. بیشترین مقدار برداشت و حذف عناصر روی، نیکل و سرب از خاک آلوده به غلظت ۳ درصد نفت خام انجام شده است که به ترتیب ۴۵/۴۷، ۳۳/۸۷ درصد و ۴۱/۶۴ درصد از کل فلزات موجود در خاک حذف گردیدند. Ogbuehi و همکاران (۲۰۱۱) نیز کاهش مقدار عناصر روی، نیکل و

مطرح هستند که به راه حلی مؤثر و ممکن نیاز دارند (Groppa *et al.*, Nascimento and Xing, 2006). به نظر می‌رسد که استخراج گیاهی امیدوارکننده‌ترین تکنیک باشد و محققان نیز توجه زیادی را به آن مبذول داشته‌اند (Nascimento and Xing, 2006). فرآیند جذب و تجمع فلز در گیاهان مختلف به غلظت فلزات موجود در خاک ها بستگی دارد (Gardea-Torresdey *et al.*, 2005). توانایی گونه‌های گیاهی در حذف و تجمع فلزات سنگین متفاوت است (Zurayk *et al.*, 2001). در خاک آلوده، عنصر روی بالاترین غلظت (۱۸۰/۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را در میان فلزات سنگین در *Alternanthera brasiliana* داشته است (Ogedegbe *et al.*, 2013). سرب یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین است که از دیر باز به عنوان یکی از آلاینده‌های محیطی به شمار می‌رفته است. خاک‌های آلوده به سرب سبب کاهش شدید محصول شده، به این ترتیب باعث بروز مشکلات جدی در امر کشاورزی می‌شوند. سرب، ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاه افزایش داده، به ایجاد تنش اکسیداتیو در آنها منجر می‌شود، (Sharma and Dubey, 2005). در تحقیقی، تجمع سرب در *Simmondsia chinensis* در خاک آلوده به نفت خام افزایش یافت در حالی که غلظت یون Zn کاهش یافت (Shukry *et al.*, 2013). در مطالعه Askary و همکاران (۲۰۱۱b) گیاهان افاقای تحت تیمار ۱ درصد نفت نسبت به شاهد، ۲۰/۸ برابر عنصر سرب را در برگ‌هایش انباشت نموده بودند. نیکل در اعمال متابولیکی گیاهان به صورت اوره‌آز در متابولیسم‌های هیدروژناز دخالت دارد. نیکل از نظر خواص شیمیایی و فیزیولوژیکی به کبالت نزدیک است و به راحتی جذب

سرب، نیکل و هیدروکربن‌های کل از خاک‌های آلوده به نفت خام، توسط گیاه گرمسیری پریش، نشان دهنده نقش این گیاه در پالایش، تصفیه و کاهش فلزات سنگین و هیدروکربن‌های نفت است. کشت پریش در مناطق آلوده به غلظت‌های پایین نفت‌خام و فضاهای سبز ایران به عنوان یک گونه زینتی، دارویی، گیاه پالا و مؤثر در کاهش هیدروکربن‌های نفتی و فلزات سنگین پیشنهاد داده می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از مسئولان محترم آزمایشگاه شرکت پتروشیمی شازند به خاطر همکاری صمیمانه در اندازه‌گیری فلزات سنگین تشکر و قدردانی می‌نمایند.

سرب خاک‌های آلوده به فلزات سنگین را با کشت گیاه بادام زمینی گزارش داده‌اند. مقدار باقی‌مانده فلزات روی، نیکل و سرب در خاک‌های آلوده به غلظت و نوع فلزات سنگین وابسته است. مقدار فلزات سنگین استخراج شده و تبخیر شده توسط گیاه به طور مستقیم با کاهش مشاهده شده در ارتفاع گیاه، تعداد و سطح برگ مرتبط بوده و باعث کاهش محصول شد (Ogbuehi et al., 2011). همچنین غلظت روی، سرب و نیکل در خاک آلوده با روغن طی گیاه پالایی با ذرت پس از هشت هفته کاهش یافته است (Stephen et al., 2013).

نتیجه نهایی این که برداشت و حذف ۴۵/۴۷، ۴۱/۶۴، ۳۳/۸۷ درصد و ۳۶/۶ درصدی عناصر روی،

منابع

- Adam, G. and Duncan, H. (2002) Influence of petroleum hydrocarbon on seed germination. *Journal of Environmental Pollution* 120: 363-370.
- Adenipekun, C. O., Oyetunji, O. J. and Kassim, L. S. (2008) Effect of spent engine oil on the growth parameters and chlorophyll content of *Corchorus olitorius* Linn. *Environmentalist* 28: 446-450.
- Akujobi, C. O., Onyeagba, R. A., Nwaugo, V. O. and Odu, N. N. (2011) Protein and chlorophyll Contents of *Solanum melongena* on diesel oil polluted soil amended with nutrient supplements. *Current Research Journal of Biological Sciences* 3(5): 516-520.
- Alikani, S. S., Shorafa, M., Tavassoli, A. and Ebrahimi, S. S. (2011) The effect of plants' growth at different densities on soil petroleum hydrocarbons remediation. *Journal of Water and Soil* 25(5): 961-970 (in Persian).
- Amdoun, R., Khelifi, L., Khelifi-Slaoui, M., Amroune, S., Benyoussef, E. H., Thi, D. V., Assaf-Ducrocq, C. and Gontier, E. (2009) Influence of minerals and elicitation on *Datura stramonium* L. tropane alkaloid production: modelization of the *in vitro* biochemical response. *Plant Science* 177: 81-87.
- Anoliefo, G. O., Isikhuemhen, O. S. and Ohimain, E. I. (2006) Sensitivity studies of the common bean (*Vigna unguiculata*) and maize (*Zea mays*) to different soil types from the crude oil drilling sites at Kutchalli, Nigeria. *Journal of Soils Sediments* 6(1): 30-36.
- Askary, M., Noori, M., Amini, F. and Beigi, F. (2011a) Evaluation of germination, growth and chlorophyll content of *Rubinia pseudoacacia* L. as affected by petroleum pollution. *Journal of Plant Biology* 3(7): 41-54 (in Persian).
- Askary, M., Noori, M., Beigi, F. and Amini, F. (2011b) Evaluation of the phytoremediation of *Robinia pseudoacacia* L. in petroleum-contaminated soils with emphasis on the some heavy metals. *Journal*

- of Cell and Tissue 2(4): 437-442 (in Persian).
- Besaltpour, A., Khoshgoftarmanesh, A. H., Hajabbasi, M. A. and Afyuni, M. (2008) Germination and growth of selected plants in a petroleum contaminated calcareous soil. *Soil Sediment Contamination* 17(6): 665-676.
- Bona, C., Mendonça de Rezende, I., De Oliveira Santos, G. and Antônio de Souza, L. (2011) Effect of soil contaminated by diesel oil on the germination of seeds and the growth of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) seedlings. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54(6): 1379-1387.
- Celik, A., Kartal, A. A., Akdogan, A. and Kaska, Y. (2005) Determining the heavy metal pollution in Denizli (Turkey) by using *Robinio pseudo-acacia* L.. *Environment International* 31(1): 105-112.
- Chupakhina, G. N. and Maslennikov, P. V. (2004) Plant adaptation to oil stress. *Russian Journal of Ecology* 35: 290-295.
- Dai, C., Hu, Y., Liu, X., Wen, J. and Zhong, C. (2011) Multi-system phytoremediation on oil-contaminated chernozem soil in daqing oilfield. Multi-system phytoremediation on oil-contaminated chernozem soil in daqing oilfield. The 1st International Conference on Environmental and Agriculture Engineering (ICEAE), Chengdu, China.
- Daryabeigi Zand, A., Nabi Bidhendi, Gh. and Mehrdadi, N. (2010) Phytoremediation of total petroleum hydrocarbons (TPHs) using plant species in Iran. *Turkish Journal of Agriculture Forestry* 34: 429-438.
- Durmishidze, S. V. (1977) Metabolism of certain air-polluting organic compounds in plants air-polluting organic compounds in plants (review). *Applied Biochemistry and Microbiology* 13(6): 646-653.
- Filippini, R., Caniato, R., Piovan, A. and Cappelletti, E. M. (2003) Production anthocyanins by *Catharanthus roseus*. *Fitoterapia* 74: 62-67.
- Gardea-Torresdey, J. L., Peraha-Videa, J. R., Rosa, G. D. L. and Parsons, J. G. (2005) Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by x-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews* 24: 1979-1810.
- Gerhardt, K. E., Huang, X. D., Glick, B. R. and Greenberg, B. M. (2009) Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. *Plant Science* 176: 20-30.
- Gilman, E. F. and Howe, T. (2011) *Catharanthus roseus* periwinkle, Madagascar periwinkle. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville.
- Gouia, H., Ghorbal, M. H. and Meyer, C. (2001) Effect of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology* 38:629-638.
- Groppa, M. D., Tomaro, M. L. and Benarides, M. P. (2007) Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium and copper treated wheat leaves. *Biometals* 20: 185-195.
- Gunther, T., Dornberger, U. and Fritsche, W. (1996) Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere* 33: 203-215.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. L. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular* 374: 1-32.
- Jaleel, C. A., Gopi, R., Alagu Lakshmanan, G. M. and Panneerselvam, R. (2006) Triadimefon induced changes in the antioxidant metabolism and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Science* 171(2): 271-276.
- Joner, J. E., Hirmann, D., Szolar, H. J., Todorovic, D. Leyval, C. and Loibner, A. P. (2004) Priming

- effects on PAH degradation and ecotoxicity during a phytoremediation experiment. *Environmental Pollution* 128: 429-435.
- Kechavarzi, C., Pettersson, K., Leeds-Harrison, P., Ritchie, L. and Ledin, S. (2007) Root establishment of perennial ryegrass (*L. perenne*) in diesel contaminated subsurface soil layers. *Environmental Pollution* 145: 68-74.
- Kumar, J. and Gupta, P. K. (2008) Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants. *Plant Biotechnology Report* 2: 93-112.
- Lee, C. S., Li, X. and Shi, W. (2006) Metal contamination in urban, suburban, and country park soils of Hong Kong: a study based on GIS and multivariate statistics. *Science of the Total Environment* 356(1-3): 45-61.
- 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. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 29(2): 515-527.
- Malizia, D., Giuliano, A., Ortaggi, G. and Masotti, A. (2012) Common plants as alternative analytical tools to monitor heavy metals in soil. *Chemistry Central Journal* 6(2): 1-10.
- Merkel, N., Schultze-Kraft, R. and Infante, C. (2004) Phytoremediation in the tropics-the effect of crude oil on the growth of tropical plants. *Bioremediation Journal* 8: 177-184.
- Misra, N. and Gupta, A. K. (2006) Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedlings. *Journal of Plant Physiology* 163: 11-18.
- Mueller, K. E. and Shann, J. R. (2006) PAH dissipation in spiked soil: impacts of bioavailability, microbial activity and trees. *Chemosphere* 64: 1006-1014.
- Muratova, A. Y., Turkovskaya, O. V., Hübner, T. E. and Kuschik, P. (2003) Studies of the efficacy of alfalfa and reed in the phytoremediation of hydrocarbon-polluted soil. *Applied Biochemistry and Microbiology* 39: 681-688.
- Nascimento, C. W. A. D. and Xing, B. (2006) Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Science Agriculture* 63: 299-311.
- Njoku, K. L., Akinola, M. O. and Ige, T. O. (2009) Comparative effects of diesel fuel and spent lubricating oil on the growth of *Zea mays* (Maize). *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 3(3): 428-434.
- Nwoko, C. O., Okeke, P. N., Agwu, O. O. and Akpan, I. E. (2007) Performance of *Phaseolus vulgaris* L. in a soil contaminated with spent-engine oil. *African Journal of Biotechnology* 6(16): 1922-1925.
- Odjegba, V. J. and Badejo J. O. (2013) Crude oil induced oxidative stress in *Capsicum annum* L. *Nature and Science* 11(2): 46-50
- Ogbo, E. M. (2009) Effects of diesel fuel contamination on seed germination of four crop plants *Arachis hypogaea*, *Vigna unguiculata*, *Sorghum bicolor* and *Zea mays*. *African Journal of Biotechnology* 8(2): 250-253.
- Ogbuehi, H. C., Ezeibekwe, I. O. and Ejioogu, M. C. (2011) The effect of spent engine oil on growth performance of groundnut (*Arachis hypogea*), grown in Owerri, Imo State. *Global Research Journal of Science* 1: 24-27.
- Ogedegbe, A., Uwaila, Ikhajagbe, B. and Anoliefo, G. O. (2013) Growth response of *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze in a waste engine oil-polluted soil. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences* 4(2): 322-327.

- Omosun, G., Markson, A. A. and Mbanasor, O. (2008) Growth and anatomy of *Amaranthus hybridus* as affected by different crude oil concentrations. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 3(1): 70-74.
- Peng, S. W., Zhou, Q. X., Zhang, H. and Shi, R. G. (2009) Responses of seed germination of 8 ornamental plants to petroleum contamination. *Chinese Journal of Environmental Science* 29: 786-790.
- Peretiemo-Clarke, B. O. and Achuba, F. I. (2007) Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. *Journal of Plant Pathology* 6(2): 179-182.
- Qixing, Z., Zhang, C., Zhineng, Z. and Weitao, L. (2011) Ecological remediation of hydrocarbon contaminated soils with weed plant. *Journal of Resources and Ecology* 2(2): 97-105.
- Quinones-Aquilar, E. E., Ferra-Cerrato, R., Gavi, R. F., Fernandez, L., Rodriguez, V. R. and Alarcom, A. (2003) Emergence and growth of maize in a crude oil polluted soil. *Agrociencia* 37: 585-594.
- Rababah, A. and Matsuzawa, S. (2002) Treatment system for solid matrix contaminated with fluoranthene 11 recirculating photodegradation techniques. *Chemosphere* 46: 49-57.
- Rosa, I., Rhykerd, R. L. and Smiciklas, K. D. (2005) Impact of petroleum diesel and biodiesel fuels on acetylene reduction in *Glycine max*. *Agronomy Abstracts. American Society of Agronomy International Meetings, Salt Lake City, UT USA*.
- Shahriari, M. H., Savaghebi-Firrozabadi, G., Minai-Tehrani, D. and Padidarani, M. (2006) The effect of mixed plants alfalfa (*Medicago sativa*) and Fescue (*Festuca arudinacea*) on the phytoremediation of light crude oil in soil. *Environmental Sciences* 13: 33-40 (in Persian).
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Lead toxicity in plants. *Plant Physiology* 17: 35-52.
- Shirdam, R., Daryabeigi Zand, A., and Nabi Bidhendi, G. (2008) Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils with emphasis on the effect of petroleum hydrocarbons on the growth of plant species. *Journal of Phytoremediation* 89: 21-29.
- Shukry, W. M., Al-Hawas, G. H. S., Al-Moaikal, R. M. S. and El-Bendary, M. A. (2013) Effect of petroleum crude oil on mineral nutrient elements, soil properties and bacterial biomass of the rhizosphere of Jojoba. *British Journal of Environment and Climate Change* 3(1): 103-118.
- Singh, O. V. and Jain, R. K. (2003) Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63: 128-135.
- Stephen, E., Yakubu, S. A., Omebije, P. E., Edego, E. and Makolo, D. (2013) Physicochemical properties of spent lubricating oil polluted soil subjected to phytoremediation. *Journal of Environment and Earth Sciences* 2(1): 1-4.
- Verma, P., George, K. V., Singh, H. V. and Singh, R. N. (2007) Modeling cadmium accumulation in radish, carrot, spinach and cabbage. *Applied Mathematical Modelling* 31: 1652-1661.
- Wang, Y. and Oyaizu, H. (2009) Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofuran-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 168: 760-764
- Zoufan, P., Saadatkhah, A. and Rastegharzadeh, S. (2013) Comparison of potentiality of heavy metals accumulation in the plants surrounding steel industries in the Mahshahr-Bandar Imam road, Ahvaz. *Journal of Plant Biology* 5(16): 41-56 (in Persian).
- Zurayk, R., Sukkariyah, B. and Baalbaki, R. (2001) Common hydrophytes as bioindicators of nickel, chromium and cadmium pollution. *Water, Air and Soil Pollution* 127: 373-288.

Evaluation of phytoremediation of petroleum hydrocarbon and heavy metals with using *Catharanthus roseus*

Mehri Askary Mehrabadi *, Fariba Amini and Parisa Sabeti

Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, P.O. Box 38156-8-8349, Arak, Iran

Abstract

Crude oil pollution is an inevitable worldwide phenomenon in oil producing and consuming areas that stems from human error, accidental discharge and other sources. The aim of this study was to evaluate the phytoremediation potential of vinca in petroleum-polluted soil. The experiment was laid out as a completely randomized design in 3 replications with different concentrations of crude oil (0, 0.5, 1, 2, 3 and 4 % V/W in pot planting stage). At the end of the 70-day period, soil samples were analyzed for total hydrocarbons removal. Contents of pb, zn and Ni were measured by atomic absorption from the soils and the leaves. Statistical analysis of data were performed on the basis of duncan's test and by using of SPSS16 software. In concentrations higher than 3 % no growth was observed. The growth parameters such as stem length, stem fresh and dry matter decreased progressively from 0.5-3 % crude oil in soil. The results showed heavy metal accumulation in plant leaves and reduction of them in the soil. Heavy metals containing zinc, lead and nickel in plant increased in different concentration of crude oil. Total hydrocarbons and heavy metals containing zinc, lead and nickel reduced were in planted contaminated soil. This study showed that Periwinkle was able to grow and survive in low concentrations of oil and reduced pollutants in the soil. Based upon these results, *Catharanthus roseus* can be used as phytoremediator of petroleum-contaminated soil in low concentrations.

Key words: Oil pollution, Periwinkle, Heavy metals, Phytoremediation, Hydrocarbon

* Corresponding Author: m-askary@araku.ac.ir