

ORIGINAL ARTICLE

Removal of Total Petroleum Hydrocarbons Using *Vetiveria Zizanioides* and Microbial Population Changes in Soil Contaminated with Oil in Ahvaz

Masoumeh Kardani¹,
Afshin Takdastan²

¹ MSc Student in Environmental Pollution, Khuzestan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
² Associate Professor, Department of Environmental Health, Environmental Technologies Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

(Received June 13, 2015 Accepted September 28, 2015)

Abstract

Background and purpose: Petroleum hydrocarbons are one of the most common persistent organic pollutants in the environment. Phytoremediation is a new technology in which the resistant plants are used to remove or reduce organic and mineral contamination and hazardous environmental substances. The purpose of this study was to evaluate the effect of *Vetiveria Zizanioides* plants on total petroleum hydrocarbons (TPH) removal in soil contaminated by oil in different concentrations of oil pollution in Khuzestan industrial area.

Materials and methods: The soil samples were collected from the areas around Ahvaz oil field and were contaminated by oil in different concentrations (5%, 7%, and 10 % w/w). TPH measurement was done (and repeated twice) during four months in five retention time. Determination of TPH concentration in GC was performed using FID detector.

Results: According to the results, the best efficiency of *Vetiveria Zizanioides* in removal of TPH was found in treatment with 5% oil pollution (91%) during 120 days. Most changes in microbial population occurred in 7% oil pollution (106×9.78 CFU/g) in 120 days.

Conclusion: *Vetiveria Zizanioides* showed to be highly capable of removing TPH from contaminated soil.

Keywords: *Vetiveria Zizanioides*, oil pollution, petroleum hydrocarbons

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(131): 87-97 (Persian).

حذف کل هیدروکربن های نفتی با استفاده از گیاه و تیور و تغییرات جمعیت میکروبی در خاک های آلوده به نفت در منطقه اهواز

معصومه کردانی^۱

افشین تکدستان^۲

چکیده

سابقه و هدف: هیدروکربن های نفتی یکی از متداول ترین گروه های آلی پایدار در محیط می باشند. گیاه پالایی فن آوری جدیدی است که در آن از گیاهان مقاوم برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده های آلی و معدنی و ترکیبات خطرناک از محیط زیست استفاده می شود. هدف این مطالعه بررسی اثر گیاه و تیور بر حذف TPH از خاک آلوده به نفت در غلظت های مختلف آلودگی نفتی در ناحیه صنعتی خوزستان بود.

مواد و روش ها: ابتدا خاک ها از اطراف میدان نفتی اهواز جمع آوری و با غلظت های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد وزنی نفت آلوده شدند. میزان TPH در طی چهار ماه با دو تکرار و در پنج زمان ماند اندازه گیری شد. جهت تعیین میزان غلظت TPH باقی مانده از دستگاه GC با دتکتور FID استفاده گردید.

یافته ها: نتایج حاصله نشان داد که بهترین راندمان حذف TPH در تیمار ۵ درصد آلودگی نفتی به میزان ۹۱ درصد توسط گیاه و تیور و در زمان ۱۲۰ روز حاصل گردید. بیشترین تغییرات جمعیت میکروبی در تیمار ۷ درصد به میزان 9.78×10^9 CFU/g در مدت زمان ۱۲۰ روز بوده است.

استنتاج: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که گیاه و تیور توانایی بالایی در حذف آلودگی های نفتی از خاک آلوده را داراست.

واژه های کلیدی: و تیور (*Vetiveria Zizanioides*), آلودگی نفتی، هیدروکربن های نفتی

مقدمه

جهان بیش از ۲۲۰۰۰ حوضه می باشد و میدان نفتی اهواز نیز دارای ۴۶۴ حلقه چاه نفت است (۳،۲). خاک به عنوان اصلی آلودگی های موجود در جهان عمل می کند (۴). تحقیقات در زمینه کاربرد گیاهان و درختان در پاک سازی خاک های آلوده به ترکیبات مختلف آلی و معدنی و فلزات سنگین در چند سال اخیر اهمیت زیادی یافته است (۵-۸). هیدروکربن های نفتی یکی از متداول ترین

امروزه به دلیل استفاده زیاد از ترکیبات نفتی در سراسر جهان، آلودگی ناشی از این ترکیبات در سطح جهانی بسیار گسترده است (۱). تاکنون بیش از ۳۶۰۰۰۰ حلقه چاه به وسیله شرکت های نفتی در سراسر جهان حفر شده است. فقط در آمریکا در حدود ۶۰۰۰ حلقه چاه تولید نفت وجود دارد تعداد چاه های نفتی در اروپای غربی تقریباً ۶۰۰۰ حلقه و تعداد حوضه های نفت و گاز شناخته شده

E-mail: afshin_ir@yahoo.com

مولف مسئول: افشین تکدستان - اهواز: دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، گروه مهندسی بهداشت محیط

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد آلودگی های محیط زیست، پردیس علوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات فناوری های زیست محیطی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۲۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۴/۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۷/۶

پالایی، انتخاب گیاهان مناسب با قابلیت رشد و سازگار شدن با محیط آلوده است. این گیاهان باید نسبت به آلودگی موجود در منطقه مقاوم بوده، حداکثر جوانه‌زنی، رشد و توسعه و سطح ویژه ریشه را داشته باشند^(۱۴). گیاهان قادرند از طریق رهاسازی عناصر غذایی و ترشح ترکیبات مختلف از جمله اسیدهای آلی و ترکیبات قندی در خاک و نیز انتقال اکسیژن به ناحیه ریشه خود موجب تحریک و افزایش فعالیت جمعیت میکروبی تخریب کننده آلاینده‌های نفتی شوند^(۱۵). در بسیاری از موارد حتی حضور فیزیکی گیاه می‌تواند شرایط خاک را بهبود بخشد. گیاه با افزایش استحکام خاکدانه‌ها و بهبود ساختمان خاک و هم‌چنین تغییر در هیدرولوژی خاک از طریق افزایش ظرفیت نگهداری آب و جلوگیری از فرسایش، این کار را انجام می‌دهد^(۱۶). هرچند گیاه پالایی آلاینده‌ها دارای مکانیزم پیچیده‌ای است، ولی در کل باعث کاهش ترکیبات آلی قابل دسترس می‌شود^{(۱۷)،(۱۸)}. بهطور کلی، چمن‌ها و علف‌های یک ساله چهت حذف ترکیبات نفتی در بسیاری از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علی‌رغم مطالعات نسبتاً وسیع انجام گرفته در خصوص زیست پالایی گیاهی خاک‌های آلوده به ترکیبات نفتی در دنیا، مطالعات بسیار محدود و پراکنده‌ای در این خصوص در ایران صورت گرفته است^(۲۰).

شهریاری و همکاران^(۲۱) مطالعه‌ای روی مخلوط گیاه فسکیو بر خاک آلوده در غلظت‌های مختلف نفت خام (۱۰-۳-۵-۷-۱۰) درصد به مدت ۱۲۰ روز داشتند که بیشترین درصد کاهش در نمونه ۱ درصد آلودگی نفتی و به میزان ۳۶/۷ درصد گزارش شد^(۲۱). Escalante-Espinosa و همکاران^(۲۰۰۵) مطالعه‌ای روی گیاه Cyperus laxus در حذف TPH داشتند که نتایج آن نشان داد که این گونه گیاهی قادر است در خاک‌هایی که غلظت TPH حتی ۲۰۰ g/kg است، رشد کند. در مطالعه فوق غلظت TPH تا ۹۰ درصد در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافت^(۲۲).

گروه‌های آلاینده‌های آلی (TPHs) پایدار در محیط می‌باشند^(۹). به طور کلی تجمع آلاینده‌ها در خاک می‌تواند اثرات مخربی بر محیط و سلامت انسان داشته باشد. آلاینده‌های موجود در خاک می‌توانند وارد زنجیره غذایی شده و سلامت حیوان و انسان را با خطر جدی مواجه سازند^(۱۰). روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعددی برای مقابله با آلودگی‌های نفتی در خاک وجود دارد که بسیاری از آن‌ها به سبب هزینه بالا و اثرات جانبی مضر کم‌تر استفاده می‌شوند^(۱۱). اصلاح بیولوژیکی نوعی تکنولوژی تصفیه است که از فعالیت بیولوژیکی موجودات زنده برای کاهش غلظت یا سمزدایی از آلاینده‌ها از جمله هیدروکربن‌های نفتی استفاده می‌کند^(۱۲). سیستم زمین- گیاه در مقایسه با دیگر روش‌های تکمیلی در مکان‌هایی که زمین به اندازه کافی در دسترس باشد به دلیل کارایی بالا، هزینه کم و عدم نیاز به نیروی متخصص از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین، در سال‌های اخیر به روش‌های زیستی نظری گیاه پالایی توجه بیشتری شده است^(۴). گیاه پالایی فن آوری جدید و نوظهوری است که در آن از گیاهان مقاوم برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده‌های آلی و معدنی و ترکیبات خطرناک از محیط زیست استفاده می‌شود^(۱۱). زیست پالایی گیاهی یک فن آوری نسبتاً جدید، مؤثر و دوستدار محیط زیست می‌باشد که توانایی آن در حذف بسیاری از آلاینده‌ها به ویژه ترکیبات نفتی به اثبات رسیده است. زیست پالایی یک روش اقتصادی برای مدیریت مواد زاید به ویژه مقادیر مازاد هیدروکربن‌های نفتی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، مواد منفجره، مواد آلی و مواد مغذی می‌باشد. مواد زایدی که بهطور بالقوه با استفاده از زیست پالایی قابل مدیریت می‌باشد بسیار متنوع هستند که از آن جمله می‌توان به فلزات، رادیونوکلاییدها، نمک‌ها، مواد مغذی و مواد آلی اشاره کرد زیست پالایی گیاهی می‌تواند ابزاری قوی در مدیریت مواد زاید نفتی باشد^(۱۳). نکته مهم برای موفقیت آمیز بودن پالایش خاک‌های آلوده به نفت به روش گیاه

است و به همین علت می‌تواند بسیار سریع رشد کند. این سیستم ریشه باعث می‌شود که گیاه و تیمور بسیار به خشکی مقاوم باشد(۲۸). در این مطالعه کاربردی میزان حذف کل هیدروکربن‌های نفتی از خاک آلوده به نفت با کمک گیاه و تیمور در طی ۴ ماه مورد بررسی قرار گرفت. خاک مورد مطالعه از اطراف چاههای نفت حفاری شده میدان نفتی اهواز جمع آوری و سپس با غلظت‌های معین آلوده و توزین گردید و پارامترهای TPH، pH، EC، جامدات آلی و جمعیت باکتری‌های هتروتروف خاک طی ۴ ماه در ۳ غلظت ۵، ۷ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی مورد آنالیز قرار گرفتند.

مواد و روش ها

روش آلوده سازی مصنوعی خاک

خاک‌های جمع آوری شده از اطراف میدان نفتی اهواز به خوبی کوییده و به صورت لایه نازکی پهن گردید. سپس نفت خام با نسبت ۱ به ۳ در استون حل شده و به شکل اسپری به خاک اضافه شد. گلدان‌ها با ۳۰ سانتی متر از خاک آلوده شده با غلظت‌های مختلف نفت پر گردید. وزن خاک هر گلدان ۷ کیلوگرم بود و جهت کاشت گیاه آماده گردید. در این مطالعه دو نوع تیمار در سه غلظت تهیه شد که شامل تیمار گیاهدار با ۵ درصد آلودگی نفتی، تیمار بدون گیاه با ۵ درصد آلودگی (تیمار شاهد)، تیمار گیاه دار با ۷ درصد آلودگی، تیمار بدون گیاه با ۷ درصد آلودگی (تیمار شاهد)، تیمار گیاه دار با ۱۰ درصد آلودگی، و تیمار بدون گیاه با ۱۰ درصد آلودگی (تیمار شاهد) بود. از هر تیمار دو تکرار تهیه گردید. در کل با توجه به دو تکرار بودن، ۱۲ حالت (۳ حالت تیمار با گیاه و ۳ حالت تیمار بدون گیاه با دو تکرار) در این تحقیق جهت آنالیز بر روی نمونه‌ها صورت گرفته است.

عملیات نمونه بردازی و هضم نمونه ها

این مطالعه در پنج زمان ماند (۱۵-۳۰-۶۰-۹۰-۱۲۰)

Haung و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه‌ای روی بازده حذف TPHs از خاک توسط ترکیب روش زیست پالایی گیاهی با برخی اقدامات مکانیکی کشاورزی داشتند. همچنین در آزمایشی دیگر که برروی ذرت و Elephant grass در مدت دو هفته داشتند، آن‌ها توانستند غلظت کل هیدروکربن‌ها را به ترتیب ۷۷/۵ درصد و ۸۳ درصد کاهش دهند(۲۳). دریابیگی زند و همکاران (۱۳۹۰) به بررسی توان پنج گونه گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک‌های بسیار آلوده با غلظت TPH بیش از ۵۰۰۰ mg/kg پرداخته و دریافتند که گیاه کتان بیشترین درصد حذف TPH را با ۸۷/۶۳ درصد داشته است(۲۴). پارسه و همکاران (۱۳۹۱) از گیاه سورگوم برای حذف آلودگی نفتی با ۲/۵۸ درصد استفاده کردند که پس از سه ماه میزان کاهش TPH بیست درصد اعلام گردید(۲۰). Basumatary و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه با دو نوع گیاه جگن را به مدت ۳۶۰ روز به انجام رساندند که درصد کاهش TPH در نمونه با کود C.Odoratus هفتاد و هشت درصد بود(۲۵). در مطالعه Udo-Inyang و همکاران (۲۰۱۳) در غلظت‌های ۵ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی، درصد کاهش TPH در آفتابگردان ۲۵/۵۹ درصد و در تیمور ۴۱ درصد گزارش شد(۲۶).

Godwin و همکاران (۲۰۱۴) کدو تبل را به مدت ۱۸ هفته و در ۴ غلظت آلودگی آنالیز کردند که نتایج نشان داد بیشترین درصد کاهش TPH در غلظت ۱/۵۹ درصد و به میزان ۹۴/۳۸ درصد بوده است(۲۷). در مطالعه حاضر به منظور گیاه پالایی از گیاه و تیمور استفاده شد. و تیمور (*Vetiveria zizanioides*) یکی از گیاهان مورد استفاده در گیاه پالایی در برخی از کشورهای جهان است که در آنالیزها نشان داده است از پتانسیل بسیار بالایی جهت جذب آلودگی‌ها برخوردار بوده و دارای ویژگی‌های مطلوب مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی جهت کشت و توسعه می‌باشد. گیاه و تیمور ساقه و ریزوم ندارد و سیستم ریشه آن گسترد و ریز

استفاده گردید و سطح معنی‌داری معادل $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. نرم‌افزار Excel نیز برای رسم نمودار مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آورده شده است.

در جدول شماره ۱ می‌توان مشاهده کرد که خاک مورد استفاده دارای ۵۰ درصد تخلخل و همچنین بافت شنی لومی بوده که درصد شن آن ۸۰/۲ درصد گزارش شد. خاک مورد مطالعه با غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد وزنی آلوده و میزان TPH خاک در شروع کار تعیین گردید که در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره ۱: نتایج آنالیز خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

مقدار	روش اندازه‌گیری	ردیف مشخصه	مورد مطالعه
۷/۲۷	دوغاب خاک با دستگاه pH متر	pH	۱
۸/۵۰	دوغاب خاک با استفاده از EC متر	EC (ds/m)	۲
۰/۰۸۷	کجدال	N%	۳
۳/۶۲	اولسن	P (mg/kg)	۴
sandy Loamy	هیدرورمتری	بافت	۵
۹	هیدرورمتری	درصد رس	۶
۸۰/۲	هیدرورمتری	درصد شن	۷
۱۰/۸	هیدرورمتری	درصد سلیت	۸
۵۰	وزن مخصوص ظاهری	درصد تخلخل	۹
۹۲/۴۴	گراویمتری (وزن سنجی)	درصد جامدات معدنی	۱۰
۷/۶۰	گراویمتری (وزن سنجی)	درصد جامدات آبی	۱۱
۲/۰۱۵	گراویمتری (وزن سنجی)	درصد رطوبت	۱۲

جدول شماره ۲: غلظت‌های سنجش شده آلودگی نفتی در خاک مورد بررسی در زمان کاشت گیاه

درصد آلودگی ایجاد شده به صورت میزان آلودگی اندازه‌گیری شده در شروع 操 منعی (غلظت اولیه) (mg/kg) کار با دستگاه GC	میزان آلودگی ایجاد شده به صورت درصد
۴۹۵۹۹/۰۳	۵
۶۸۷۴۸/۲۴	۷
۹۹۵۴۸/۲۷	۱۰

میزان TPH حذف شده در طی فرایند گیاه پالایی میزان تغییرات حذف TPH در تیمارهای با گیاه و تیمارهای شاهد در غلظت‌های مختلف (۵ درصد، ۷ درصد

روز) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آنالیزها از هر یک از گلدان‌ها مقداری خاک برداشت شده و در کیسه زیپ دار نگه‌داری و سپس جهت آنالیز به آزمایشگاه انتقال داده شد.

سنجهش TPH

برای اندازه‌گیری غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل از کروماتوگراف گازی شرکت Agilent که مجهز به آشکارساز FID بود استفاده گردید. حد آشکارسازی (Detection limit) ۱ ppm و درصد بازیابی آن نیز بین ۶۴ تا ۷۰ درصد بود. تعیین غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل براساس روش UNEP سازمان محیط زیست آمریکا انجام شد. در این روش جهت تعیین غلظت هیدروکربن‌های نفتی کل خاک، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه در عصاره گیر سوکسله با ۲۵۰ میلی لیتر از مخلوط هگزان و دی‌کرومتان ۵۰:۵۰ مورد استخراج قرار گرفت. سپس ۱ میکرولیتر از عصاره به دست آمده به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف Agilent6890Ng دستکتور یونیزاسیون شعله‌ای FID و ستون مویینه B-5 مورد اندازه‌گیری و تعیین میزان قرار گرفت.^(۲۹)

شمارش تعداد باکتری‌های هتروتروف جهت تعیین جمعیت میکروبی خاک تیمارهای مختلف از روش شمارش بشقابی باکتری‌های هتروتروفت (HPC) استفاده شد. به منظور شمارش کلنی‌های باکتری تشکیل شده بر روی پتربی دیش‌ها بعد از دوره انکویاسیون، از دستگاه کلنی کانتر استفاده گردید. جمعیت میکروبی با مقیاس CFU/g بیان شده است.^(۳۰)

روش تعیین کل جامدات فرار از وزن سنجی برای تعیین کل جامدات فرار نمونه خاک براساس روش EPA ۱۶۸۴ استفاده شد.^(۲۴)

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها جهت بررسی اختلاف میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از نسخه ۱۷ نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری

جدول شماره ۳: میزان تغییرات حذف TPH در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه بر حسب mg/kg

زمان	درصد آلوگی	تیمارهای با گیاه	تیمارهای شاهد	درصد
	درصد	درصد	درصد	درصد
روز	.	۹۹۵۸/۷۲	۶۸۷۴/۷۳	۹۹۵۸/۷۲
روز	۱۰	۹۹۵۹/۰۳	۹۹۵۹/۰۳	۹۹۵۹/۰۳
روز	۱۵	۳۶۸۰/۲۴۹	۳۶۸۰/۲۴۹	۳۶۸۰/۲۴۹
روز	۳۰	۳۵۷۱/۱۳۱	۳۵۷۱/۱۳۱	۳۵۷۱/۱۳۱
روز	۶۰	۳۶۰۵/۲۱	۳۶۰۵/۲۱	۳۶۰۵/۲۱
روز	۹۰	۳۶۷۰/۵۲۳	۳۶۷۰/۵۲۳	۳۶۷۰/۵۲۳
روز	۱۲۰	۳۵۶۱/۶۶	۳۵۶۱/۶۶	۳۵۶۱/۶۶

جدول شماره ۴: میزان تغییرات pH در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه

تیمارهای شاهد		تیمارهای باگاه		درصد آکودگی	
زمان	درصد	زمان	درصد	زمان	درصد
۱۰ درصد	۶/۶۳	۷ درصد	۶/۴۸	۵ درصد	۶/۴۰
روز	۱۵	۶/۷۳	۶/۰۵	۷ درصد	۶/۷۳
روز	۳۰	۶/۹۲	۶/۱۹	۵ درصد	۶/۹۸
روز	۶۰	۷/۰۹	۶/۹۷	۷ درصد	۶/۸۲
روز	۹۰	۷/۱۵	۷/۱۰	۵ درصد	۶/۹۸
دوز	۱۲۰	۷/۷۸	۷/۱۵	۷ درصد	۷/۰۲

جدول شماره ۵: میزان تغییرات EC در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه بحسب

تیمارهای شاهد					تیمارهای باگاه					درصد آکودگی
درصد ۱۰	درصد ۷	درصد ۵	درصد ۱۰	درصد ۷	درصد ۵	درصد ۱۰	درصد ۷	درصد ۵	زمان	
۱۰/۹۰	۱۰/۹۹	۹/۹۱	۱۰/۹۰	۱۰/۹۹	۹/۹۱	۱۰/۹۰	۱۰/۹۹	۹/۹۱	.	
۱۰/۵۹	۱۰/۲۶	۹/۴۶	۶/۷۱	۶/۵۲	۶/۴۹	۱۰/۵۹	۱۰/۲۶	۹/۴۶	روز ۱۵	
۹/۳۴	۸/۸۶	۸/۵۵	۳/۵۸	۳/۷۰	۳/۴۷	۸/۳۴	۸/۸۶	۸/۵۵	روز ۳۰	
۸/۰۵	۷/۷۰	۶/۲۸	۳/۴۶	۳	۲/۹۷	۸/۰۵	۷/۷۰	۶/۲۸	روز ۶۰	
۷/۸۷	۶/۲۷	۵/۸۷	۲/۹۸	۲/۹۵	۲/۸۲	۷/۸۷	۶/۲۷	۵/۸۷	روز ۹۰	
۷/۴۴	۶/۱۳	۵/۰۱	۲/۸۰	۲/۷۶	۲/۶۳	۷/۴۴	۶/۱۳	۵/۰۱	روز ۱۲۰	

تغییرات جمعیت میکروبی طی فرایند گیاه پالا بی میزان جمعیت میکروبی هتروتروف خاک مورد مطالعه در دو زمان روز اول و روز ۱۲۰ شمارش شد. در طی ۱۲۰ روز میزان جمعیت میکروبی خاک افزایش داشته و این افزایش در تیمارهای با گیاه بیشتر از تیمارهای شاهد بوده است. با توجه به جدول ۶ میزان جمعیت میکروبی هتروتروف خاک در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلدگی نفتی در تیمارهای با گیاه به ترتیب $9/64 \times 10^9$, $9/78 \times 10^9$ و $8/31 \times 10^9$ CFU/g بوده که تیمار ۷ درصد آلدگی نفتی بیشترین افزایش تعداد حجمیت میکروبی بوده است.

۱۰ درصد) بررسی شد. با توجه به جدول ۳ بهترین بهترین راندمان حذف TPH در تمام غلظت‌ها در زمان ۱۲۰ روز و در تیمارهای با گیاه در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی درصد حذف TPH اندازه گیری شده به ترتیب ۹۱ درصد، ۸۶/۴ درصد و ۸۰/۳ درصد بود. هم‌چنین کمترین میزان حذف TPH در تمامی غلظت‌های تیمارهای شاهد و در ۱۵ روز مشاهده شد که در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی درصد حذف TPH اندازه گیری شده به ترتیب ۲۵/۸ درصد، ۱۷/۵ درصد و ۸/۲ درصد بود.

تغییرات pH طی فرایند گیاه پالایی

تغییرات pH طی فرایند گیاه پالایی در طی ۴ ماه در ۳ غلظت (۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد) آلوگی نفتی مورد سنجش قرار گرفت. با توجه به جدول شماره ۴ می‌توان مشاهده کرد که میزان pH در طول فرایند گیاه pH پالایی افزایش داشته و تیمارهای شاهد تغییرات pH بیشتری نسبت به تیمارهای با گیاه داشته‌اند. بیشترین تغییرات pH در تمام تیمارها در روز ۱۲۰ بوده و بیشترین تغییرات در سه غلظت ۵ درصد، ۷ درصد و درصد آلوگی نفتی در تیمارهای شاهد و به ترتیب در صد، ۹/۸۰ و ۱۰/۳۳ درصد به دست آمد.

میزان تغییرات EC در طی ۴ ماه مورد سنجش قرار گرفت. در طی فرایند گیاه پالایی میزان EC کاهش داشته و این کاهش در تیمارهای با گیاه بیشتر از تیمارهای شاهد بوده است. با توجه به جدول ۵ می‌توان مشاهده نمود که بیشترین تغییرات EC تیمارهای با گیاه در غلظت‌های ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد به ترتیب در روز ۱۲۰ ds/m²/۸۰ و ۲/۷۶ م/۲، ۲/۷۶ مشاهده شده‌اند.

برای همه تیمارها یکسان حفظ شود. طبق نتایج حاصله بیشتر بودن جمعیت میکروبی و همچنین حذف TPH در تیمارهای کشت شده با گیاه نسبت به تیمارهای شاهد می‌تواند به دلیل تولید و تکثیر ریشه گیاه و فراهم آوردن ماتریکس رشد و همچنین افزایش ترشحات ریشه گیاه و در نتیجه تحریک جمعیت میکروبی تجزیه کننده هیدروکربن‌های نفتی باشد. ریشه گیاهان با ترشح ترکیبات آلی مانند گلوکر، آنزیم‌ها و کربوھیدرات‌های پیچیده منبعی مناسب از کربن و انرژی را برای میکرووارگانیسم‌های ناحیه ریشه فراهم می‌سازند ترشحات ریشه سبب شل شدگی خاک و در نتیجه انتقال اکسیژن به قسمت‌های عمیق‌تر خاک می‌شود که خود سبب بهبود رشد گیاه و میکرووارگانیسم‌های تجزیه کننده آلانینده‌ها می‌شود.^(۳۳) تاکنون مطالعات زیادی در زمینه گیاه پالایی با گیاه و تیور در سراسر دنیا صورت گرفته که در شرایط، غلظت‌ها و زمان‌های مانند مختلف بوده است. Udo-*Inyang* و همکاران تحقیقی روی آفتابگردان و و تیور گراس برای حذف هیدروکربن‌های نفتی در دو غلظت ۵ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی انجام دادند که درصد کاهش TPH در آفتابگردان ۲۵/۵۹ درصد و در و تیور ۴۱ درصد بود.^(۲۶) Godwin و همکاران مطالعه‌ای بر روی کدو تنبیل به مدت ۱۸ هفته و در ۴ غلظت آلودگی نفتی انجام دادند که بیشترین درصد کاهش TPH در غلظت ۱/۵۹ درصد به میزان ۹۴/۳۸ درصد بود.^(۲۷) Janngam و همکاران برای اصلاح خاک آلوده به تریکلرواتیلن از گیاه و تیور استفاده کردند و بیشترین درصد کاهش تریکلرواتیلن در آلودگی با نسبت ۱:۱، ۷۱ درصد و بیشترین کاهش تریکلرواتیلن در آلودگی با نسبت ۱:۳، ۴۱ درصد به دست آمد.^(۳۴) دریابیگی زند و همکاران به بررسی توان پسخ گونه گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک‌های بسیار آلوده با غلظت TPH بیش از ۵۰۰۰ mg/kg پرداختند. نتایج نشان داد که گیاه کتان بیشترین درصد حذف TPH (به میزان ۸۷/۶۳ درصد) را داشته است.^(۲۰) در مطالعه حاضر بهترین

جدول شماره ۶: میزان تغییرات تعداد باکتری‌های هتروتروف اولیه و ثانویه در تیمارهای با گیاه و شاهد بر حسب CFU/g

زمان	درصد آلودگی					تیمارهای با گیاه					تیمارهای شاهد					
	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	
روز	۲/۸۱×۱۰ ^۰	۲/۹۱×۱۰ ^۰	۲/۹۱×۱۰ ^۰	۲/۸۱×۱۰ ^۰	۲/۹۱×۱۰ ^۰	۲/۸۱×۱۰ ^۰	۲/۸۲×۱۰ ^۰	۲/۹۱×۱۰ ^۰	۲/۸۱×۱۰ ^۰	۹/۷۸۱×۱۰ ^۰	۹/۶۴۱×۱۰ ^۰	۸/۱۹۲×۱۰ ^۰	۸/۳۱۸×۱۰ ^۰	۸/۱۱۰۱×۱۰ ^۰	۹/۶۵۱×۱۰ ^۰	
روز																۱۲۰

میزان تغییرات جامدات آلی در طی فرایند گیاه پالایی میزان تغییرات جامدات آلی طی ۴ ماه گیاه پالایی مورد سنجش قرار گرفت. بیشترین درصد کاهش در تمام غلظتها در زمان ۱۲۰ روز و در تیمارهای با گیاه مشاهده گردید که در جدول ۷ می‌توان مشاهده نمود در غلظت ۵ درصد، ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی درصد ۶۶/۴۰ کاهش اندازه گیری شده به ترتیب ۶۵/۴۹ درصد، درصد ۶۶/۴۱ درصد بوده است. تیمار با ۱۰ درصد آلودگی نفتی نیز بیشترین کاهش جامدات الی را به خود اختصاص داد.

جدول شماره ۷: میزان درصد تغییرات جامدات آلی در تیمارهای با گیاه و شاهد در طی ۴ ماه

زمان	درصد آلودگی					تیمارهای با گیاه					تیمارهای شاهد				
	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد	۵ درصد	۷ درصد	۱۰ درصد
.	۱۶/۰۲	۱۵۳۰	۱۴۸۵	۱۶/۰۲	۱۵۳۰	۱۴۸۵	۱۶/۰۲	۱۵۳۰	۱۴۸۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰
روز	۱۳/۲۱	۱۱۷۱	۱۱۹۵	۱۵۹۸	۱۴۹۶	۱۳۸۹	۱۳/۲۱	۱۱۷۱	۱۱۹۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
روز	۱۲/۲۳	۱۱۲۳	۱۱۷۰۵	۱۲۰۵	۱۲۰۵	۱۱۸۵	۱۲/۲۳	۱۱۲۳	۱۱۷۰۵	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
روز	۱۱/۷۷	۱۰۷۷	۹۸	۹۵۶	۷۷۴۳	۷/۷۴	۷/۷۴	۱۰۷۷	۹۸	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
روز	۱۰/۱۱	۹۶۳	۹۰۴	۸	۷/۰۱	۷/۷۱	۷/۰۱	۹۶۳	۹۰۴	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰
روز	۸/۹۴	۸۷۷	۸۶۸	۵۳۸	۵۱۴	۵۰۹	۵۰۹	۸۷۷	۸۶۸	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰

بحث

کارایی فرآیند گیاه پالایی مانند اکثر فرآیندهای بیولوژیکی به عوامل محیطی متعددی بستگی دارد که از مهم ترین این عوامل می‌توان به مواد آلی، مواد سمی، رطوبت، دما، ظرفیت تبادل یونی، نوع بافت خاک و pH اشاره کرد که بر کارایی فرآیند گیاه پالایی و نفوذپذیری خاک تاثیرگذار هستند.^(۲۵) هرچند که عوامل زیاد و بعضًا ناشناخته‌ای ممکن است در کارایی فرآیند گیاه پالایی تأثیرگذار باشند، در این مطالعه سعی شد حتی الامکان شرایط محیطی مانند نور، دما و رطوبت

باکتری های هتروتروف در تیمارهای با ۱۰ درصد آلودگی نفتی نسبت به تیمارهای دیگر کاهش داشته و این به علت وجود آلودگی زیاد و ایجاد حالت بازدارندگی برای رشد باکتری ها بوده است. همچنین بررسی ها نشان می دهد که تمام تیمارها در روزهای ۱۵ و ۱۲۰ با یکدیگر دارای اختلاف معنی داری بودند ($p < 0.05$) و در زمان ۱۲۰ روز نیز با شاهد اختلاف معنی دار داشتند ($p < 0.05$). میکرووار گانیسم ها و گیاهان علاوه بر آب و رطوبت به مواد معنی و مواد غذی نیاز دارند و با رشد میکرووار گانیسم ها و افزایش تعداد آن ها میزان مصرف مواد معنی در خاک افزایش یافته و لذا EC کاهش می باید. EC شاخص میزان مواد معنی در خاک است و به همین دلیل هر چه مصرف گیاه و باکتری بیشتر شود مواد معنی کمتر می شود. در نتیجه با گذشت زمان EC کاهش می باید و این کاهش در تیمارهای با گیاه بیشتر از تیمارهای بدون گیاه (شاهد) بود. تمام تیمارها با زمان همبستگی منفی در سطح ۱۰٪ داشتند. همچنین بررسی ها نشان می دهد که تیمارهای ۵ و ۷ درصد در ۹۰، ۶۰ و ۳۰ روز فاقد اختلاف معنی دار بودند ($p > 0.05$). تیمار ۱۰ درصد در ۹۰ و ۱۲۰ روز با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند و در روزهای ۳۰ و ۶۰ با یکدیگر فاقد اختلاف معنی دار بودند ($p > 0.05$). تیمار اصلی در تمامی درصدها و در تمامی روزها به جز صفر با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0.05$). با گذشت زمان pH افزایش پیدا می کند که به دلیل آمونیفیکاسیون است. با افزایش گاز آمونیاک و یون آمونیوم میزان pH رفته افزایش می باید و چون مصرف یون آمونیوم توسط گیاه صورت می گیرد علاوه بر میکرووار گانیسم ها، گیاهان هم یون آمونیوم را به عنوان منبع ازت استفاده می کنند. لذا افزایش pH در نمونه های با گیاه کمتر از نمونه های شاهد بود که به دلیل مصرف نشدن و باقی ماندن یون آمونیوم در تیمارهای

راندمان حذف TPH در غلظت ۵ درصد آلودگی نفتی و در زمان ۱۲۰ روز به میزان ۹۱ درصد بود و کمترین درصد حذف مربوط به تیمار شاهد با ۱۰ درصد آلودگی نفتی و در زمان ۱۵ روز به میزان ۸/۲ درصد بود. تیمارهای ۵، ۷ و ۱۰ درصد آلودگی نفتی با زمان همبستگی مشت در سطح ۰/۰۱ داشتند. با توجه به نتایج به دست آمده در غلظت ۷ درصد و ۱۰ درصد آلودگی نفتی میزان راندمان حذف TPH به نسبت ۵ درصد آلودگی نفتی کاسته شده است. این امر به علت وجود آلودگی زیاد و ایجاد حالت بازدارندگی رشد فعالیت گیاه و باکتری ها بوده است اما با این حال در همه تیمارهای با گیاه در تمام غلظت های آلودگی نفتی میزان حذف TPH بالاتر از نمونه های شاهد بود که این نشان می دهد گیاه و تیور توانایی گیاه پالایی خاک های آلوده به نفت را دارد. همچنین این بررسی نشان از اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) بین تیمارهای با گیاه و شاهد در میزان حذف TPH و در زمان ۴ ماه دارد. با توجه به این که بیشترین کاهش جامدات آلی مربوط به تیمار با گیاه ۱۰ درصد آلودگی در ۱۲۰ روز و به میزان ۶۶/۴۱ درصد بود می توان نتیجه گرفت که جامدات آلی به عنوان منبع کربن جهت میکرووار گانیسم های موجود در ریزوسfer خاک مورد استفاده قرار می گیرند و این امر به مرور زمان باعث تجزیه شدن و کاهش میزان آن ها می گردد. درصد جامدات آلی خاک تمام تیمارها با زمان همبستگی منفی در سطح ۰/۰۱ داشتند. همچنین بررسی ها نشان داد که تیمارهای ۵ و ۷ درصد در روزهای ۹۰ و ۱۲۰ دارای اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) با شاهد بودند و تیمار ۱۰ درصد در روزهای ۹۰ و ۱۲۰ دارای اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) با شاهد بود. علاوه بر این، افزایش تعداد باکتری های هتروتروف در دوره ۱۲۰ روزه به این علت بود که مواد آلی موجود در خاک همراه با هیدروکربن ها به عنوان یک منبع غذایی برای باکتری ها به شمار می رفت و افزایش تعداد باکتری های هتروتروف در تیمارهای با گیاه بیشتر از تیمارهای شاهد بود. تعداد

منع غذایی برای باکتری‌ها بوده است. در نتیجه میزان جامدات آلی در خاک در طی فرایند گیاه پالایی کاهش یافته است. هم‌چنین تعداد باکتری‌های هتروتروف در خاک تیمارهای با گیاه در طی فرایند گیاه پالایی بیشتر از تیمارهای شاهد بود.

سپاسگزاری

نویسنده‌گان این مقاله از شرکت ملی حفاری ایران به دلیل حمایت مالی این تحقیق مرتب تشکر و قدردانی را دارند.

شاهد بوده است. تمام تیمارها با زمان همبستگی مشت در سطح ۰/۰۱ داشتند. هم‌چنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که بین هیچ یک از تیمارها و روزهای در تیمار اصلی و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (p > ۰/۰۵). با توجه به نتایج به دست آمده در همه تیمارهای با گیاه در تمام غلظت‌های آلودگی میزان حذف TPH بالاتر از نمونه‌های شاهد بود. این نشان از این دارد که گیاه و نیور با توجه به آلودگی‌های موجود توانایی زنده ماندن و گیاه پالایی خاک‌های آلوده به نفت را دارد. مواد آلی موجود در خاک همراه با هیدروکربن‌ها به عنوان

References

- Collins CD. Implementing Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbons. Methods in Biotechnology. In: Willey N, Editor. Phytoremediation: Methods and Reviews. London, UK: Springer; 2006. p. 99-100.
- Rezaee MR. Petroleum. In: Petroleum geology. 2nd ed. Tehran: Farhikhtegan Alavi; 2005 (Persian).
- Najafi Asfad M, Darabinia M. Evaluation of Oil Pollution Process despite International Conventions for its Prevention and Removing. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(Supple1): 94-101 (Persian).
- Torabi Far M, Jaafarzadeh N, Takdastan A, Jafarnejadi A.R, Afshar A.M. Performance of a land treatment system and vetiver plant for advanced treatment of ahvazwest Municipal wastewater treatment plant effluent. Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. Winter 2013-2014; 20(4): 511-520 (Persian).
- Amouei AI, Mahvi AH, Naddaf K. Effect of chemical additives on the availability of heavy metals (Pb, Cd, Zn) in soil. J Babol University of Medical Sciences 2005; 7(4): 26-31(Persian).
- Ebbs SD, Lasat MM, Brady DJ, Cornish J, Gordon R, Kochian L. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated site. J Environ Qual 1997; 26(5): 1424-1430.
- Salt DE, Blaylock MJ, Kumar N, Dushenkov V, Ensley BD, Chet II, et al. Phytoremediation: A novel strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants. Biotech 1995; 13(5): 468-474.
- Amouei A, mahvi AH, nadafi K, fahimi H, mesghinia A, naseri S. Study optimum operating conditions in the phytoremediation of soil contaminated with lead and cadmium by native plants in Iran. J kordestan Univ Med Sci 2012; 17(4): 93-102. (Persian).
- Huang XD, El-Alawi Y, Gurska J, Glick BR, Greenberg BM. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. Microchemical Journal 2005; 81, 139-147.
- Khan AG. Khan AG. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 2005; 18(4): 355-364.

-
11. Pulford ID, Watson C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees--a review. *Environ Int* 2003; 29(4): 529-540.
 12. Takdastan A, Torabifar M, Jaafarzadeh Jaafarzadeh N, Jafarnejadi A, Ahmadi Engali K. Investigation of TC and TSS Removal Efficiencies at Ahvaz West WTP Effluent Using the Land-plant Treatment Process. *Journal of Water and Waste Water* 2015; 26(5): 99-105.
 13. McCutcheon SC, Schnoor JL. Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants, 1st ed. New Jersey, USA: John Wiley & Sons; 2003.
 14. Adam G, Duncan H. Influence of diesel fuel on seed germination. *Environ Pollut* 2002; 120(2): 363-370.
 15. Li CH, Ma BL, Zhang TQ. 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 Journal of Soil Science* 2002; 82(2): 147-154.
 16. Zohrehvand F, Takdastan, A, Jaafarzadeh N, Ramezani Z, Ahmadi angali K, Gharibi H, et al. Assessment of Lead Contamination in Vegetables, Irrigation Water and Soil in Farmlands Irrigated by Surface Water in Ahvaz. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2014; 24(118):225-230.
 17. Rouyanian Firouz Z, Takdastan A, Jaafarzadeh Haghifard N, Sayyad GA. Feasibility of Land Treatment that Removal of Nitrogen and Phosphor of Chonaibeh Waste Water Treatment Plant (Ahwaz). *Asian Journal of Research in Chemistry* 2011; 4(4): 597-601.
 18. Frick C, Germida J, Farrell R. Assessment of phytoremediation as an in-situ technique for cleaning oil-contaminated sites. In: technical seminar on chemical spills conference, Environment Canada 1999, 105a-124a.
 19. Cluis C. Junk-greedy Greens: Phytoremediation as a new option for soil decontamination. *Bio Teach J* 2004; 2: 61-67.
 20. Daryabeygi zand A, Nabi bidhendi GR, Mehrdadi N, Shirdem R. The ability of different plant species in removing composition oil from soil and effects of oil pollution on the growth of this species. *Journal of Environmental Science and Technology* 2010; 12(4); 41-57 (Persian).
 21. Shahriari MH, Savaghebi-Firrozbadi GR, Minai-Tehrani D, Padidaran M. The Effect of Mixed Plants Alfalfa (*Medicago sativa*) and Fescue (*Festuca arundinacea*) on the Phytoremediation of Light Crude Oil in Soil. *Environmental Sciences* 2006; 13: 33-40 (Persian).
 22. Escalante-Espinosa E, Gallegos-Martinez ME, Favela-Torres E, Gutierrez-Rojas M. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system. *Chemosphere* 2005; 59(3): 405-413.
 23. Ayotamuno JM, Kogbara RB, Egwuenum PN. Comparison of corn and elephant grass in the phytoremediation of a petroleum hydrocarbon- contaminated agricultural soil in Port Harcourt, Nigeria. *Journal of Food, Agriculture, & Environment* 2006; 4(3&4): 218-222.
 24. Alavi Bakhtiarvand SN, Parseh I, Ahmadimoghadam M, Jafarzadeh N. Greenhouse assessment of phytoremeditation efficiency for petroleum contaminated in Clay and Saline Soils. *J Health Syst Res* 2013; 8(7): 1272-1279 (Persian).

25. Basumatary B, saikia R, Bordoloi S, Chandra Das H, Prasad Sarma H. Assessment of potential plant species for phytoremediation of hydrocarbon-contaminated areas of upper Assam, India. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 2012; 87(9): 1329-1334.
26. Charles UIU, Edem D, Nkereruwem JM. Application of Phyto-Remediation (Sunflower and Vetiver Grass) on Crude Oil Spilled Soil Cultivated to Jute Mallow (*Cochrorus Olitorius* L.). Resources and Environment 2013; 3(6): 169-175.
27. Akpan GU, usuah PE. Phytoremediation of Diesel Oil Polluted Soil by Fluted Pumpkin (*Telfairia Occidentalis Hook F.*) in Uyo, Niger Delta Region, Nigeria. Journal of Environment and Earth Science 2014; 4(1): 6-15.
28. Truong P, Tan van T, Pinners E. Vetiver system applications Technical Reference, 2nd ed. Thailand: CreateSpace Independent Publishing Platform, 2008.
29. EPA. Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) as Gasoline and Diesel SW-846 Method 8015B. Revision 2, December, 1996.
30. WHO. Guidelines for Drinking-water Quality, vol. 1, Recommendations. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1993.
31. U.S. EPA. Office of Water Office of Science and Technology Engineering and Analysis Division (4303) 1200 Pennsylvania Ave. NW Washington, DC 20460 .Method 1684 Total, Fixed, and Volatile Solids in Water, Solids, and Biosolids. EPA-821-R-01-015 January 2001.
32. Longley K. The Feasibility of poplars for phytoremediation of TCE contaminated groundwater: A Cost-Effective and Natural Alternative Means of Groundwater Treatment. [Thesis]. Master of Environmental Studies The Evergreen State College. June 2007; 70-100.
33. Shim H, Chauhan S, Ryoo D, Bowers K, Thomas SM, Canada KA, Burken JG, Wood TK. Rhizosphere competitiveness of trichloroethylene- degrading poplar-colonizing recombinant bacteria. Appl Environ Microbiol 2000; 66(11): 4673–4678.
34. Janngam J, Anurakpongson P, Satapanajaru T, Techapinyawat S. Phyoremediation: vetiver Grass in Remediation of soil contaminated with trichloroethylene science journal ubon ratchathani university 2010; 1(2): 52-57.