



Evaluation of Growth and Physiological Responses of Bermudagrass in an Electrokinetic Bioremediation System for Oil-Contaminated Soil with A Response Surface Curve

Raziyeh Daryaei¹ , Ali Akbar Moosavi² , Reza Ghasemi³ , Amin Mojiri⁴ , Masoud Riazi⁵

1. Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran. E-mail:

raziyeh.daryaei100@gmail.com

2. Corresponding Author, Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran. E-mail:

aamousavi@gmail.com; aamousavi@shirazu.ac.ir

3. Department of Soil Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran. E-mail:

ghasemireza2000@yahoo.com

4. School of Sustainable Engineering and The Built Environment, Arizona State University, USA. E-mail:

amin.mojiri@gmail.com

5. School of Mining and Geosciences, Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan. E-mail: mrizi180@gmail.com

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: Apr. 22, 2026

Revised: July. 5, 2026

Accepted: Aug. 10, 2026

Published online: Oct. 23, 2026

Keywords:

**Field capacity moisture,
Microbial–algal consortium
bioremediation,
Oil pollution,
Phytoremediation,
Response Surface Methodology,
Petroleum hydrocarbon**

ABSTRACT

Crude oil contamination of soil is a complex environmental challenge requiring novel remediation approaches. This study designed a synergistic system combining electrokinetics (0, 1.5, and 3 V/cm), phytoremediation with Bermuda grass, and bioremediation using a bacterial–algal consortium (*Pseudomonas fluorescens* and *Chlorella*) at moisture levels of 60%, 80%, and 100% of field capacity. The system was evaluated for remediating soil contaminated with 1.5%, 3%, and 4.5% crude oil. Response Surface Methodology (RSM) was used to optimize and model treatment effects on plant growth indices (fresh and dry weight, height, leaf area, and greenness index). RSM analyses showed complex interactions between electric field intensity, contamination level, and the biological consortium, with models achieving high R^2 values (0.82–0.99). Under optimal conditions, all plant indices increased with the application of the integrated electrokinetic-bioremediation system, and the greatest improvement in the studied variables was observed in samples containing the algal–bacterial consortium, representing the innovative aspect of this research. The maximum values of fresh and dry weight, greenness index, plant height, and leaf area were observed in treatment No. 22 (1.5% crude oil contamination, electric current of 1.5 V cm⁻¹, biological treatment with 3% algal (*Chlorella*)-bacterial (*Pseudomonas fluorescens*) consortium, and soil moisture at 80% of field capacity), reaching 50.10 and 20.67 g pot⁻¹, 70.50 and 45.50 cm, and 4.90 cm² pot⁻¹, respectively. The results demonstrated that employing an integrated electrokinetic–biological–phytoremediation system alongside modeling approaches (e.g., RSM) can provide an effective and scalable strategy for managing oil-contaminated soils and enhancing plant resilience in such environments.

Cite this article: Daryaei R., Moosavi, A. A., Ghasemi, R., Mojiri A., & Riazi, M. (2026). Evaluation of growth and physiological responses of Bermudagrass in an electrokinetic-bioremediation system for oil-contaminated soil with a response surface curve. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 57(8), 1928-1956. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.413084.670124>

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.413084.670124>



EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Soil is a complex mixture of mineral materials, organic matter, gases, liquids, and living organisms that, through continuous interactions, sustain life on Earth. Given its foundational role in engineering and agriculture, and particularly in securing food for the rapidly growing global population, the soil is one of the most important natural resources. Consequently, protecting soil and preventing contamination have become critical global priorities. Over the past decade, environmental pollution from different contaminants has emerged as one of the most serious challenges for human society, necessitating the application of eco-friendly, innovative remediation approaches. A comprehensive evaluation of the multi-dimensional impacts of these methods on soil and plant characteristics, along with comparing their efficacies and establishing operational priorities, has not been sufficiently evaluated. Therefore, this research aimed to design and evaluate an integrated, synergistic system combining electrokinetics, phytoremediation, and bioremediation. The primary innovation was applying a dried, powdered microbial-algal consortium (*Chlorella* biomass with *Pseudomonas fluorescens*) rather than live algae, contributing to nutrient supply, soil structure improvement, and microbial activity support. For the first time in such a triple system, Response Surface Methodology (RSM) was employed to model and optimize operational conditions with a specific focus on plant growth and physiological indices. This study offers a novel, sustainable solution to one of the most challenging environmental issues and enhances understanding of complex remediation mechanisms in oil-contaminated soils.

Materials and Methods

This greenhouse study used Response Surface Methodology (RSM) with a Box-Behnken design, implemented in Design-Expert software version 11. The experimental treatments comprised three levels of crude oil contamination: 1.5%, 3%, and 4.5%wt. Electrical potential was applied at three levels: 0, 1.5, and 3 V cm⁻¹ of soil. Biological treatments included three levels: 0%, 3% *Pseudomonas fluorescens* bacterium alone, and a 3% consortium of dried *Chlorella* algae biomass and *Pseudomonas fluorescens* bacterium. Additionally, three soil moisture levels of 60%, 80%, and 100% of field capacity (FC) were imposed. Bermuda grass (*Cynodon dactylon*) was cultivated in calcareous loam-textured soil. The effects of treatments on plant growth and physiological indices, including fresh and dry weights, plant height, leaf area, and greenness index, were investigated. Measurements were taken before harvest. Plant height and leaf area were measured using a ruler. Greenness index was directly measured on healthy and mature leaves using a SPAD-502 chlorophyll meter. Subsequently, plants were harvested, and the fresh weight of shoots was recorded. Subsamples of harvested shoots were dried in an oven at 65°C for 48 hours to determine shoot dry weight. Finally, modeling, optimization, and validation were performed using the RSM approach in the Design-Expert 11 software environment.

Results and discussion

RSM analysis revealed that the interaction between electrical field intensity, contamination level, and consortium composition creates a complex pattern of plant responses. All resulting models were statistically significant, exhibiting high adjusted and predicted R² values ranging from 0.82 to 0.99. Under optimal conditions, all examined plant growth and physiological indices increased with the application of the integrated electrokinetic-bioremediation system. The most significant improvements in growth variables were observed in samples containing the algae-bacteria consortium (dried *Chlorella* biomass with *Pseudomonas fluorescens* solution), which constitutes the primary innovative aspect of this study. The maximum values for the studied traits were observed in Run 22 (1.5% crude oil contamination, 1.5 V cm⁻¹ electrical potential, 3% algae-bacteria consortium treatment, and 80% FC soil moisture). These values were 50.10 and 20.67 g pot⁻¹ for shoot fresh and dry weights, 70.50 for greenness index, 45.50 cm for plant height, and 4.90 cm² pot⁻¹ for leaf area. Optimization results demonstrated minimal deviations between experimental and predicted values, with percentage errors falling within acceptable limits. Consequently, the RSM model effectively predicts fresh and dry weights, greenness index, plant height, and leaf area of Bermuda grass by integrating electrical potential, biological agent type, and soil moisture at varying crude oil contamination levels. The integrated electrokinetic-bio-phytoremediation system, combined with the RSM modeling, provides an effective and scalable approach for managing oil-contaminated soils and enhancing plant resilience.

Conclusion

The findings demonstrated that the integrated electrokinetic-bioremediation system is an effective and sustainable approach for enhancing plant growth in oil-contaminated soils. The synergy between electrical current and biological treatment, particularly the algae-bacteria consortium, effectively mitigated the adverse effects of oil contamination and created favorable conditions for plant development. Combining physical and



biological processes overcomes limitations inherent in each method when applied independently. The simultaneous improvement in plant growth and physiological indices indicated that the system increases biomass and resilience under stress while providing a conducive environment for phytoremediation. This study also revealed that soil moisture stress does not necessarily lead to a significant decrease in plant performance. In other words, the system maintained its efficiency even under water-stress conditions, strengthening operational stability in arid regions where water shortage is common. The RSM-based multi-phase modeling proved to be a precise tool for designing remediation systems while reducing laboratory costs. Future research should investigate long-term sustainability at field scales and examine efficacy with various organic pollutants and different plant species. In summary, these results revealed the significant potential of the electrokinetic-bioremediation system as a novel, eco-friendly, scalable approach for remediating oil-contaminated soils, providing a scientific basis for practical strategies in soil conservation and restoration.

Funding

The study was funded by the University of Shiraz, Iran and National Iranian South Oilfields Company (53-180-04/0005).

Authorship contribution

Conceptualization, Ali Akbar Moosavi, Razieyeh Daryaei, Reza Ghasemi, Masoud Riazi, and Amin Mojiri; methodology, Razieyeh Daryaei, Ali Akbar Moosavi, Reza Ghasemi, Masoud Riazi, and Amin Mojiri; software, Razieyeh Daryaei and Ali Akbar Moosavi; validation, Razieyeh Daryaei, Ali Akbar Moosavi, Reza Ghasemi, Masoud Riazi, and Amin Mojiri; formal analysis, Razieyeh Daryaei and Ali Akbar Moosavi; investigation, Razieyeh Daryaei, Ali Akbar Moosavi, Reza Ghasemi, Masoud Riazi, and Amin Mojiri; resources, Ali Akbar Moosavi, Reza Ghasemi, and Masoud Riazi; data curation, Razieyeh Daryaei and Ali Akbar Moosavi; writing—original draft preparation, Razieyeh Daryaei and Ali Akbar Moosavi; writing—review and editing, Ali Akbar Moosavi, Reza Ghasemi, Masoud Riazi, and Amin Mojiri; visualization, Razieyeh Daryaei, Ali Akbar Moosavi, Reza Ghasemi, Masoud Riazi, and Amin Mojiri; supervision, Ali Akbar Moosavi; project administration, Ali Akbar Moosavi; funding acquisition, Ali Akbar Moosavi and Masoud Riazi.

All authors have read and agreed to the published version of the manuscript

Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process

In preparing this work, the authors used Grammarly and ChatGPT for grammar checking, improving the English abstract, and formatting references. After using these tools/services, the authors reviewed and edited the content as needed and take full responsibility for the content of the publication.

Data availability statement

All information and results supporting the findings of this study are presented within the article.

Acknowledgements

The authors sincerely thank Shiraz University and National Iranian South Oilfields Company (53-180-04/0005) for their financial and technical support. The authors would like to thank anonymous reviewers for their valuable suggestions in manuscript revision.

Ethical considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and any form of misconduct.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ارزیابی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیک برموداگراس در سامانه پالایش الکتروسینتیک-زیست‌پالایی خاک آلوده به نفت با منحنی سطح پاسخ

راضیه دریایی آباده^۱، سید علی اکبر موسوی^{۲*}، رضا قاسمی^۳، امین مجیری^۴، مسعود ریاضی^۵

۱. بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: raziyeh.daryaei100@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: aamousavi@gmail.com؛ aamousavi@shirazu.ac.ir

۳. بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: ghasemireza2000@yahoo.com

۴. دانشکده مهندسی پایدار و محیط‌زیست، دانشگاه ایالتی آریزونا، ایالات متحده آمریکا، آمریکا رایانامه: amin.mojiri@gmail.com

۵. دانشکده معدن و علوم زمین، دانشگاه نظربایف، آستانه، قزاقستان. رایانامه: mriazi180@gmail.com

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۲/۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۴/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۵/۱۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۸/۱

واژه‌های کلیدی:

رطوبت ظرفیت مزرعه،

زیست‌پالایی با کنسرسیوم میکروبی-

جلبکی،

آلودگی نفتی،

گیاه‌پالایی،

روشن سطح پاسخ،

هیدروکربن‌های نفتی

آلودگی خاک به نفت خام از پیچیده‌ترین چالش‌های محیط‌زیستی و نیازمند بهره‌گیری از رویکردهای جدید برای اصلاح خاک می‌باشد. در این پژوهش، یک سامانه چندفازی و هم‌افزا شامل الکتروسینتیک (ولتاژ الکتریکی در سطوح ۰، ۱/۵ و ۳ ولت بر سانتی‌متر)، گیاه‌پالایی با گیاه برموداگراس و زیست‌پالایی با کنسرسیوم باکتری-جلبکی (باکتری سودوموناس فلئورسانس و جلبک کلرولا) و در سطوح رطوبتی ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه طراحی و اجرا شد تا کارایی آنها در پالایش خاک آلوده به سطوح ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد وزنی نفت خام ارزیابی شود. برای دستیابی به شرایط بهینه و مدل‌سازی اثر تیمارها بر شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک گیاه (وزن تر و وزن خشک، ارتفاع گیاه، مساحت برگ و شاخص سبزیگی) از روش منحنی سطح پاسخ (RSM) استفاده شد. تحلیل‌ها نشان داد تعامل بین شدت میدان الکتریکی، سطح آلودگی و ساختار زیستی کنسرسیوم، الگوی پیچیده‌ای از پاسخ‌های گیاهی را رقم می‌زند و مدل‌های به‌دست‌آمده دارای R^2 تنظیم و پیش‌بینی‌شده بالا و بین ۰/۸۲ تا ۰/۹۹ بودند. در شرایط بهینه تمامی شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک با کاربرد سیستم تلفیقی الکتروسینتیک-زیست‌پالایی افزایش یافت و بیشترین بهبود در متغیرها مورد مطالعه در نمونه‌های حاوی کنسرسیوم جلبک-باکتری به عنوان مهم‌ترین جنبه نوآورانه این پژوهش مشاهده شد. بیشینه میزان وزن تر و خشک، شاخص سبزیگی، ارتفاع گیاه و مساحت برگ در اجرای ۲۲ (آلودگی نفتی ۱/۵ درصد، جریان الکتریکی ۱/۵ ولت بر سانتی‌متر، تیمار بیولوژیکی ۳ درصد کنسرسیوم جلبک کلرولا)-باکتری (سودوموناس فلورسانس) و رطوبت ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه) مشاهده شد که به ترتیب برابر با ۵۰/۱۰ و ۲۰/۶۷ گرم در گلدان، ۷۰/۵۰ و ۴۵/۵۰ سانتی‌متر و ۴/۹۰ سانتی‌متر مربع در گلدان بودند. نتایج نشان داد بهره‌گیری از سامانه یکپارچه الکتروسینتیک-زیستی-گیاهی در کنار روش‌های مدل‌سازی مانند RSM، می‌تواند رویکردی مؤثر و قابل توسعه برای مدیریت خاک‌های آلوده به نفت و افزایش تاب‌آوری گیاه در این خاک‌ها فراهم آورد.

استناد: دریایی، راضیه؛ موسوی، سید علی اکبر؛ قاسمی، رضا؛ مجیری، امین؛ و ریاضی، مسعود (۱۴۰۵). ارزیابی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیک برموداگراس در سامانه پالایش الکتروسینتیک-زیست‌پالایی خاک آلوده به نفت با منحنی سطح پاسخ. *مجله تحقیقات آب و خاک ایران*، ۵۷ (۸)، ۱۹۵۶-۱۹۲۸.



<https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.413084.670124>

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.413084.670124>

مقدمه

خاک یکی از مهم‌ترین منابع طبیعی و بستر اصلی تولیدات کشاورزی، حفظ تنوع زیستی و پایداری اکوسیستم‌ها به شمار می‌رود (Telo da Gama, 2023). با این حال، گسترش فعالیت‌های صنعتی و نفتی در دهه‌های اخیر موجب افزایش آلودگی خاک به ترکیبات نفتی شده است. آلودگی نفتی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های زیست‌محیطی، با تأثیر بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک، عملکرد اکوسیستم‌ها و رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Daryae et al., 2024). از این رو، توسعه روش‌های کارآمد، پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای پالایش خاک‌های آلوده به نفت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در دهه اخیر آلودگی محیط زیست به واسطه آلاینده‌های گوناگون به یکی از مهم‌ترین مشکلات جوامع بشر تبدیل شده است که توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Alanazi et al., 2021). بنابراین لازم است پالایش و تقویت خاک و بررسی روش‌های مختلف پالایش آلودگی خاک (به‌عنوان یکی از اجزای مهم و بسیار مرتبط با سایر اجزای محیط‌زیست مانند آب، هوا و موجودات زنده) به‌خصوص روش‌های نوین دوست‌دار محیط‌زیست دنبال شوند. آلودگی خاک به ترکیبات نفتی، به واسطه رشد فزاینده صنایع و حمل‌ونقل‌های نفتی، به یکی از حادترین چالش‌های زیست‌محیطی در مقیاس جهانی تبدیل شده است. این آلاینده‌ها با تأثیرات مخرب بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک، سلامت اکوسیستم‌ها و به تبع آن، امنیت غذایی و سلامت انسان را به طور جدی به مخاطره می‌اندازند (Daryae et al., 2024). به عبارتی هیدروکربن‌های نفتی به دلیل زیست تخریب‌پذیر بودن یکی از شایع‌ترین گروه‌های آلوده‌کننده‌های آلی در محیط زیست می‌باشند (سعادت و همکاران، ۱۳۹۴) و از مشکلات بسیار مهم و عمده‌ای می‌باشد که محیط زیست انسان و سایر موجودات زنده را به طور جدی تهدید می‌کند (Alharbi et al., 2018; Zeng et al., 2018; Chattopadhyay et al., 2019; Hamid et al., 2020). بنابراین پالایش محیط‌های مختلف آلوده به ترکیبات نفتی اعم از خاک، آب و هوا امری ضروری و مهم می‌باشد (سعادت و همکاران، ۱۳۹۴).

روش‌های سنتی پاکسازی خاک، نظیر دفن یا شست‌وشوی شیمیایی، اغلب پرهزینه و زمان‌بر بوده و می‌توانند منجر به بروز آلودگی‌های ثانویه شوند (Sakhaei et al., 2024). این محدودیت‌ها، ضرورت توسعه رویکردهای نوین، کارآمد و پایدار را برای پالایش خاک‌های آلوده بیش از پیش نمایان می‌سازد. در سالیان اخیر، روش‌های زیستی به دلیل سازگاری با محیط زیست، هزینه کمتر و اثربخشی بیشتر، توجه بسیاری را به خود جلب کرده‌اند. زیست پالایی یک فناوری نسبتاً نوین پالایش خاک‌های آلوده است که در آن از موجودات زنده برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده‌های معدنی، رادیواکتیو و آلی به ویژه ترکیبات نفتی از محیط زیست استفاده می‌شود (کمری و فرشادفر، ۱۳۹۲). این روش مقرون به صرفه و ساده است که عموماً از مقبولیت عمومی بیشتری برخوردار می‌باشد و به دلیل سازگار بودن با محیط زیست، امکان اجرای آن در مکان‌های آلوده بدون آنکه تأثیر سوئی بر حاصلخیزی و فعالیت‌های متابولیکی میکروب‌های خاک داشته باشد، وجود دارد. این ویژگی زیست‌پالایی مانع از انتقال آلاینده‌ها از مکان آلوده به مکان دیگر می‌شود و متعاقباً خطرات بالقوه‌ای که می‌تواند در طی جابه‌جایی آلاینده‌ها برای سلامتی انسان و محیط زیست به وجود آید را کاهش می‌دهد. به علاوه، فناوری زیست پالایی برای پالایش طیف وسیعی از آلاینده‌های زیست محیطی مناسب می‌باشد و به واسطه دگرگونی یا تجزیه این آلاینده‌ها سبب کاهش سمیت آن‌ها می‌شود؛ نظر به اینکه زیست پالایی جایگزین مناسبی برای فناوری‌های پالایشی مرسوم می‌باشد، لذا پژوهش‌ها در این زمینه به سرعت رو به گسترش است (حسینی و همکاران، ۱۴۰۲). در روش‌های زیستی احیاء محیط زیست با استفاده از ریزجانداران و گیاهان انجام می‌شود. گیاه‌پالایی یک روش زیستی سبز برای پالایش خاک از آلودگی‌های مختلف می‌باشد. از جمله ویژگی‌های شاخص این روش می‌توان به سازگاری با محیط زیست، موثر، آسان و در دسترس بودن اشاره کرد (Shen et al., 2021; Gavrilescu, 2022).

گیاه پالایی یک روش مناسب برای پاکسازی محیط آلوده است (Etim, 2012; Hussein et al., 2022; Priya et al., 2023). گیاه پالایی واژه جامعیت که از سال ۱۹۹۱ برای استفاده از گیاه برای کاهش میزان، تحرک، سمیت آلاینده از خاک، آب زیر زمینی و یا دیگر محیط‌های آلوده استفاده شده است. این روش، یک روش نوین‌بخش در حذف آلاینده‌ها از خاک است که به دلیل ارزانی و ایمنی بیشتر محیط، نسبت به سایر روش‌های متداول فیزیکوشیمیایی تصفیه خاک ارجحیت دارد. در این روش با استفاده از مکانیسم‌های پاکسازی

متنوعی در ناحیه ریشه گیاه و یا درون خود گیاه نظیر تثبیت گیاهی^۱، استخراج گیاهی^۲، تجزیه ریزوسفری^۳، ریزوفیلتراسیون^۴، تجزیه گیاهی^۵ و کنترل هیدرولیکی، آلاینده‌ها را از خاک و آب حذف می‌کند (Cherian & Oliveira, 2005; Khan et al., 2023; Ogundele et al., 2025). اکثر مطالعات گراس‌ها و لگوم‌ها را با پتانسیل خوب تشخیص داده‌اند زیرا سیستم ریشه‌ای فیبری و گسترده‌ای دارند. سیستم ریشه‌ای گراس‌ها بیشترین سطح ویژه را نسبت به انواع دیگر گیاهان داشته و در خاک تا عمق سه متری نفوذ می‌کنند (Medina et al., 2003; Pinna et al., 2024; Yan et al., 2026). با این حال، کارایی روش گیاه پالایی، به ویژه در مواجهه با آلودگی‌های پیچیده و غلظت‌های بالای ترکیبات نفتی، اغلب با چالش‌هایی روبرو است. از این رو، پژوهشگران به سمت توسعه سیستم‌های یکپارچه و چندفازی روی آورده‌اند که با ترکیب مکانیسم‌های مختلف، هم‌افزایی در فرآیند پاکسازی ایجاد کرده و کارایی کلی را به طور چشمگیری افزایش دهند. در واقع کارایی روش سبز گیاه پالایی به دلیل سرعت کم رشد گیاهان و احتمال آسیب به آن کمتر از سایر روش‌ها می‌باشد (Gavrilescu, 2022; Wang et al., 2022). اخیراً راهکارهای جدیدی همانند به کارگیری تیمارهای کمکی (تلقیح ریزجانداران، استفاده از جاذب‌ها، جریان الکتریکی یا ترکیبی از دو یا چند روش (الکتروبیوسینتیک)) به عنوان یک رویکرد موثر برای بهبود کارایی روش گیاه پالایی و کاهش نقاط ضعف این روش معرفی شده است (Alves et al., 2022; Liu et al., 2022). به عنوان مثال، الکتروبیوسینتیک به عنوان یک روش فیزیکی-شیمیایی، با تسهیل حرکت آلاینده‌ها و بهبود دسترسی ریزجانداران و ریشه‌های گیاه به آن‌ها، می‌تواند نقش کاتالیزوری در تسریع فرآیندهای زیستی ایفا کند (Gidudu & Chirwa, 2020; Gidudu & Chirwa, 2022). الکتروبیوسینتیک (استفاده از جریان الکتریکی) یکی دیگر از روش‌های نوین برای پالایش خاک می‌باشد. کلمه الکتروبیوسینتیک (الکترو + سینتیک (جنشی)) به معنای پدیده الکتریکی برای تولید پتانسیل الکتریکی است که سبب حرکت بارهای الکتریکی و یون‌ها در محیط اعمال جریان الکتریکی می‌شود. بنابراین اساس این روش عبور میدان الکتریکی در محیط خاک می‌باشد. مزیت مهم این روش، کاربرد آن در خاک‌هایی با نفوذپذیری کم و همچنین قابلیت استفاده بالقوه از آن برای طیف وسیعی از آلاینده‌ها می‌باشد. همچنین ترکیب این روش با روش‌های اصلاحی دیگر همانند روش گیاه پالایی سبب بهبود کارایی و کاهش هزینه‌ها می‌شود؛ عوامل متعددی از جمله قدرت جریان الکتریکی، نوع ولتاژ و جنس الکترود در کارایی این روش موثر می‌باشند (Gnanasundar & Raj, 2021).

استفاده از ریز جانداران همانند انواع باکتری‌ها در پالایش خاک‌های آلوده و بهبود سیستم گیاه پالایی یک روش سبز و بالقوه می‌باشد که کاربرد توأم آن با روش‌های اصلاحی سبب بهبود کارایی روش‌های پالایشی می‌شود (Alves et al., 2022). بسیاری از باکتری‌های محرک رشد گیاهان برای حمایت از گیاهان در مقابل تنش‌های غیرزیستی، مانند انواع آلودگی‌ها، تنش رطوبتی، و بهبود رشد گیاه ثبت شده‌اند (Jeyasundar et al., 2021). میکروجلبک‌ها از ریزجانداران تک سلولی هستند که ممکن است ثابت یا متحرک باشند و در شرایط سخت به راحتی زندگی می‌کنند و سریعاً رشد می‌کنند. میکروجلبک‌ها در برابر مقادیر زیاد آلودگی تحمل زیادی از خود نشان داده‌اند و به میزان قابل توجهی قدرت کاهش مواد آلاینده را دارند و می‌توانند آلاینده‌های آلی همچون مواد نفتی را جذب کرده و آنها را به ترکیبات درون سلولی مانند لیپید و کربوهیدرات تبدیل کنند (Gharib et al., 2024). بنابراین با این روش مواد آلاینده در محیط کاهش می‌یابد و دارای مزایایی همچون هزینه کمتر، خسارت کمتر به اکوسیستم، درصد حذف بالای آن‌ها، بازدهی قابل قبول، مقاومت زیاد در برابر مقادیر زیاد آلاینده، کاهش آلاینده به میزان قابل توجه و دوستدار محیط زیست می‌باشد. مهمترین میکروجلبک‌های مورد استفاده برای پالایش زیستی *Spirulina*، *Scenedesmus*، *Chlorella* sp می‌باشند (Olguin, 2003; Rath, 2010; Ruiz-Marin et al., 2013; Almeida et al., 2023). استفاده از کنسرسیوم این جلبک‌ها در کنار باکتری‌هایی که در واقع از طرفی محرک رشد بوده و از طرفی در کاهش آلاینده آلی از محیط موثر باشند می‌تواند سبب تقویت عملکرد هر یک از اجزا به صورت مجزا باشد (Gods'gift & Fagade, 2016; Subashchandrabose et al., 2019).

به‌منظور دستیابی به حداکثر کارایی سامانه‌های پالایش خاک آلوده، شناسایی و بهینه‌سازی سطوح عوامل مؤثر امری ضروری است. در این راستا، روش سطح پاسخ (RSM) به‌عنوان یکی از ابزارهای آماری کارآمد برای مدل‌سازی، ارزیابی اثرات متقابل عوامل و تعیین شرایط بهینه فرآیند شناخته می‌شود و امکان دستیابی به پاسخ مطلوب را با تعداد آزمایش کمتر فراهم می‌سازد (Bezerra et al., 2008).

1 Phytostabilization

2 Phytoextraction

3 Rhizodegradation

4 Rhizofiltration

5 Phytodegradation

6 Response Surface Methodology



با وجود پیشرفت‌های موجود در حوزه پالایش خاک‌های آلوده به نفت، اطلاعات محدودی درباره عملکرد سامانه‌های تلفیقی الکتروسینتیک، گیاه‌پالایی و زیست‌پالایی مبتنی بر کنسرسیون‌های میکروبی-جلبکی و همچنین شرایط بهینه بهره‌برداری از آن‌ها وجود دارد. از این رو، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه برموداگراس در یک سامانه یکپارچه و هم‌افزای الکتروسینتیک-گیاه‌پالایی-زیست‌پالایی خاک آلوده به نفت خام انجام شد. نوآوری این پژوهش در به‌کارگیری همزمان یک کنسرسیون میکروبی-جلبکی مبتنی بر زیست‌توده خشک‌شده جلبک، فرآیند الکتروسینتیک و گیاه برموداگراس در خاک آلوده به نفت و همچنین استفاده از روش سطح پاسخ برای ارزیابی و بهینه‌سازی همزمان شرایط عملیاتی سامانه با تأکید بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه است. نتایج این پژوهش می‌تواند در توسعه سامانه‌های پایدار و کارآمد پالایش خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی و بهبود درک تعاملات میان اجزای زیستی و غیرزیستی سامانه مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه خاک مورد مطالعه و اندازه‌گیری ویژگی‌های آن

به منظور بررسی اثر روش‌های اصلاح الکتروسینتیک، زیست‌پالایی و گیاه‌پالایی بر برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه و همچنین مدل‌سازی و بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر آنها، در خاک‌های آلوده به سطوح مختلف نفت خام در شرایط رطوبتی مختلف با استفاده از منحنی سطح پاسخ، پژوهشی در آزمایشگاه‌ها و گلخانه تحقیقاتی بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه (طول جغرافیایی ۲۹ درجه و ۵۰ دقیقه شمالی، عرض جغرافیایی ۵۴ درجه و ۴۶ دقیقه شرقی، و ارتفاع ۱۸۱۰ متر از سطح دریا) طراحی و انجام شد.

خاک مورد مطالعه یک خاک آهکی (دارای ۳۶/۸۵ درصد کربنات کلسیم معادل (CCE)) با بافت لومرسی بود که از خاک کشت‌نشده و شخم‌خورده سری دانشکده واقع در ایستگاه تحقیقاتی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه برداشته شد. پس از هوا خشک کردن و عبور از الک ۲ میلی‌متری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک مورد استفاده در پژوهش پیش از اعمال تیمارها با استفاده از روش‌های استاندارد معمول اندازه‌گیری شد که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های اولیه خاک‌های مورد استفاده در این پژوهش

ویژگی‌ها (واحد)	روش	منبع	مقدار
رس (درصد)			۲۹/۹۳
سیلت (درصد)			۳۲/۷۸
شن (درصد)			۳۷/۲۹
کلاس بافت	هیدرومتری	Gee & Bauder (1986)	لوم رسی
رطوبت ظرفیت زراعی (درصد وزنی)	دستگاه سلول فشاری	Richards & Fireman (1943)	۲۵
کربنات کلسیم معادل (درصد)	تیتراسیون برگشتی با HCl	Loeppert & Suarez (1996)	۳۶/۸۵
سدیم عصاره اشباع (میلی‌گرم در لیتر)	شعله‌سنجی	Helmke & Sparks (1996)	۱۲
پتاسیم عصاره اشباع (میلی‌گرم در لیتر)			۱۵
کلسیم عصاره اشباع (میلی‌کی‌والان در لیتر)	تیتراسیون با اتیلن دی‌امین تترا	Richard (1954)	۱۰
منیزیم عصاره اشباع (میلی‌کی‌والان در لیتر)	استیک اسید		۱/۶۴
پ‌هاس خمیر اشباع	پ‌هاس متر	Thomas (1996)	۷/۶۳
قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع (دسی‌زیمنس بر متر)	هدایت‌سنج الکتریکی	Rhoades (1996)	۰/۷۳۶
ماده آلی (درصد)	تر سوزانی	Walkley & Black (1943)	۰/۸۸۵

تهیه نفت مورد نیاز و اندازه‌گیری ویژگی‌های آن

نفت خام مورد نیاز نیز از شرکت پالایش نفت شیراز تهیه و برخی ویژگی‌های آن با استفاده از روش‌های استاندارد معمول در آزمایشگاه مرکزی نفت دانشکده مهندسی نفت دانشگاه شیراز اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

جدول ۲- ویژگی‌های اولیه آلاینده نفت خام مورد استفاده در این پژوهش

ویژگی (واحد)	مقدار	روش / وسیله اندازه‌گیری
ویسکوزیته دینامیکی	دور در دقیقه	گشتاور (درصد)
ویسکوزیته دینامیکی (سانتی‌پواز)	۵۰/۸	۲۵/۴
	۵۰/۹	۴۲/۳
	۵۲/۲	۶۰/۸
	۵۳/۶	۸۰/۳
نقطه ریزش (درجه سلسیوس)	+۲	ASTM D97-02
چگالی (گرم بر سانتی‌متر مکعب)	۰/۹۳۳۱	پیکنومتر

تمام ویژگی‌های فوق در فشار ۶۴۰ میلی‌متر جیوه و دمای ۲۶/۵ درجه سلسیوس (دما و فشار معمول آزمایشگاه) اندازه‌گیری شده‌اند.

طرح آزمایشی و تیمارهای مورد استفاده

طرح آزمایشی با روش RSM با مدل باکس-بنکن در فضای نرم‌افزار Design Expert 11 طراحی شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد آلاینده آلی نفت خام، سه سطح اعمال ولتاژ الکتریکی ۰، ۱/۵ و ۳ ولت بر سانتی‌متر خاک، سه سطح تیمار زیستی شامل ۰ (شاهد) و ۳ درصد باکتری (سودوموناس فلئورسانس) و ۳ درصد کنسرسيوم جلبک (کلرلا)- باکتری (سودوموناس فلئورسانس) و سه سطح تنش رطوبتی ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) و تحت کشت گیاه علفی چمن برموداگراس^۱ (که در منابع فارسی با نام‌های مرغ، چکواش، بندواش، سگ‌واش، علف برمودا و علف دوروا نیز نامیده می‌شود) بودند.

آماده‌سازی خاک، اعمال تیمارها و کاشت

پس از تهیه تیمارهای مورد نظر، نفت خام به میزان مشخص در هر تیمار به ۲/۵ کیلوگرم خاک هوا خشک‌شده اضافه و به خوبی مخلوط شد. برای تضمین تعامل مؤثرتر آلاینده با خاک و جلوگیری از تبخیر، خاک‌های آلوده به مدت ۷۲ ساعت در کیسه‌های پلاستیکی در بسته با حجم تقریبی ۴ لیتر نگهداری شدند. پس از گذشت سه روز، نمونه‌های خاک آلوده به نفت خام به گلدان‌های پلاستیکی استوانه‌ای با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و قطر کف ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر منتقل شدند. گلدان‌ها در شرایط رطوبت زراعی و شرایط کنترل‌شده گلخانه (رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۵ درصد و دمای ۱۵ تا ۳۵ درجه سلسیوس) به مدت یک ماه نگهداری شدند تا محیط به تعادل برسد و آماده کشت شود.

پیش از کاشت، برای جلوگیری از کمبود احتمالی عناصر غذایی مورد نیاز در طول آزمایش، تمامی گلدان‌ها به صورت یکنواخت و بر اساس نتایج آزمون خاک به شرح زیر عناصر غذایی را دریافت کردند: آهن به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع Fe-EDDHA، روی، منگنز و مس به ترتیب به میزان ۱۰، ۱۰ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نمک‌های سولفات عناصر به شکل محلول، نیتروژن به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل اوره (نیمی در زمان کاشت و نیمی در اواسط فصل رشد) و فسفر به میزان ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از منبع مونوکلسیم فسفات.

پس از افزودن عناصر غذایی و اعمال تیمارهای زیستی شامل ۳ درصد وزنی محلول باکتری *P. fluorescens* (1×10^8 CFU mL⁻¹) و کنسرسيوم جلبک-باکتری (*Chlorella-Pseudomonas fluorescens*) (به ترتیب به شکل پودر جلبک خشک‌شده و مایع تلقیح) و اختلاط کامل با خاک، دو گرم بذر چمن برموداگراس (*Cynodon dactylon*) در تاریخ ۱ مرداد ۱۴۰۳ در گلدان‌ها کاشته شدند. گلدان‌ها با آب مقطر تا رطوبت نزدیک به ظرفیت مزرعه‌ای (FC) آبیاری شدند و این سطح رطوبتی برای یک هفته پس از جوانه‌زنی از طریق افزودن آب برای حفظ وزن ثابت حفظ شد. تقریباً یک ماه پس از کاشت، جریان الکتریکی مستقیم با ولتاژهای مشخص‌شده، روزانه به مدت چهار ساعت و با پلاریته معکوس اعمال شد که این روند به مدت یک ماه ادامه یافت (شکل ۱). لازم به ذکر است در سامانه الکتروسیتیک، از الکترودهای گرافیتی با فاصله ۱۳ سانتی‌متر از یکدیگر استفاده شد. میدان الکتریکی نیز در سطوح ۰، ۱/۵ و ۳ ولت بر سانتی‌متر اعمال شد. در طول فصل رشد، تیمارهای رطوبتی متفاوت خاک (۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد (FC) از طریق آبیاری با آب مقطر یک روز در میان اعمال شدند تا به

1. Bermuda grass (*Cynodon dactylon*)

شرایط رطوبتی مورد نظر برسند.

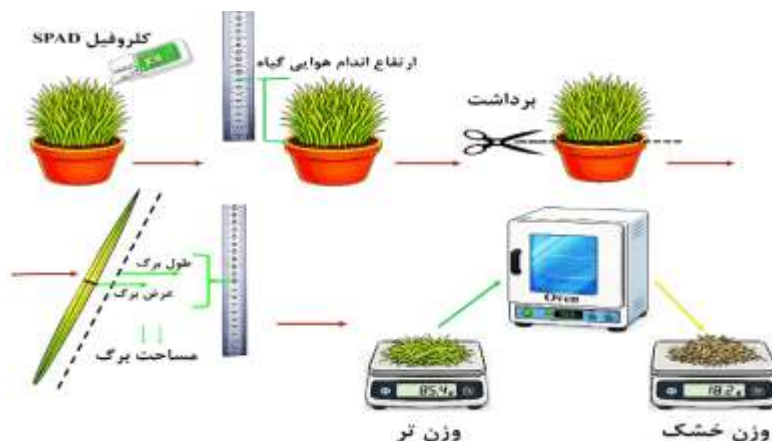


شکل ۱- تصویری از گیاه چمن برموداگراس و فرایند اعمال جریان الکتریکی مستقیم (DC) در ولتاژهای مشخص مختلف

لازم به ذکر است بخش باکتریایی کنسرسيوم مورد استفاده در این پژوهش به صورت مایع تلقیح آماده از بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات آب و خاک تهیه و مطابق دستورالعمل ارائه شده در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. همچنین بخش جلبکی کنسرسيوم شامل زیست‌توده خشک شده جلبک *Chlorella* بود که به صورت پودر خشک از شرکت بیوگرین (Bio green) خریداری شد. اجزای مذکور پس از اختلاط، برای تشکیل کنسرسيوم جلبک-باکتری در تیمارهای مورد نظر مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین سطوح کنسرسيوم بر اساس درصد وزنی نسبت به خاک تعریف شد. به این ترتیب که در سطح ۳ درصد وزنی و برای هر ۲/۵ کیلوگرم خاک، مجموعاً ۷۵ گرم کنسرسيوم به خاک افزوده شد که شامل ۳۷/۵ گرم زیست‌توده خشک جلبکی و ۳۷/۵ میلی‌لیتر (معادل ۳۷/۵ گرم) سوسپانسیون باکتریایی بود. انتخاب این نسبت با هدف ایجاد یک کنسرسيوم عملکردی متشکل از جزء میکروبی فعال و جزء جلبکی آلی انجام شد تا اثرات مکمل آن‌ها در بهبود شرایط زیستی و پالایشی خاک مورد ارزیابی قرار گیرد. لازم به ذکر است که هدف از تعریف درصد وزنی کنسرسيوم، تعیین میزان کاربرد عملیاتی اجزای زیستی در خاک بود و این شاخص برای مقایسه مستقیم تعداد سلول‌های باکتریایی با زیست‌توده جلبکی به کار نرفته است. همچنین لازم به ذکر است باکتری *Pseudomonas fluorescens* به دلیل توانایی شناخته شده در تجزیه ترکیبات هیدروکربنی نفت، تولید ترکیبات محرک رشد گیاه، بهبود جذب عناصر غذایی و افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی و زیست‌توده خشک شده *Chlorella* به دلیل دارا بودن مواد آلی و ترکیبات زیست‌فعال، قابلیت بهبود فعالیت‌های زیستی خاک، حمایت از جمعیت‌های میکروبی، افزایش ظرفیت نگهداری آب و کمک به مدیریت شرایط رطوبتی خاک انتخاب شد. بررسی‌ها حاکی از آن است که زیست‌توده خشک شده جلبکی حتی پس از مرگ سلول‌ها نیز می‌تواند به دلیل ساختار متخلخل، ترکیبات آلی و گروه‌های عاملی سطحی، نقش مؤثری در جذب آلاینده‌ها و بهبود فرایندهای پالایشی داشته باشد (Gerai & Shokrkhar, 2025). استفاده همزمان از این دو جزء در قالب یک کنسرسيوم، با هدف بهره‌گیری از اثرات هم‌افزای آن‌ها در بهبود رشد گیاه و ارتقای کارایی سامانه پالایش خاک آلوده به نفت انجام شد.

برداشت و اندازه‌گیری برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه

پس از گذشت یک ماه از زمان اعمال تیمارها، به گیاهان و خاک یک دوره استراحت تقریباً ۲ هفته‌ای داده شد (Keshavarz et al., 2021; Mohrazi et al., 2023). قبل از برداشت، ارتفاع گیاه با خط‌کش مدرج (با دقت میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ، طول و عرض برگ‌ها با استفاده از خط‌کش مدرج (با دقت میلی‌متر) اندازه‌گیری شد و سپس برای برآورد دقیق‌تر مساحت برگ، محاسبات بر اساس دو تقریب هندسی متداول محاسبه مساحت شکل بیضی و شکل لوزی انجام شد. در نهایت میانگین مقادیر حاصل از دو روش به عنوان مساحت برگ گزارش شد. میزان شاخص سبزیگی نیز مستقیماً با استفاده از دستگاه کلروفیل متر (SPAD-502) در برگ‌های سالم و بالغ اندازه‌گیری شد. سپس گیاهان از طوقه برداشت شدند. وزن تر شاخساره‌ها اندازه‌گیری شد و بخشی از گیاهان برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در آون قرار داده شد و وزن خشک شاخساره نیز اندازه‌گیری شد (شکل ۲).



شکل ۲- تصویری شماتیک از مراحل برداشت و اندازه گیری برخی شاخص های رشدی و فیزیولوژیک گیاه

روش سطح پاسخ (RSM): طراحی باکس-بنکن و تحلیل آماری

در این پژوهش از مدل شناسایی سطح پاسخ برای مدل سازی رابطه بین متغیر و پاسخ، طراحی آزمایش و بهینه سازی شرایط برای دستیابی به بهترین بازده استفاده شد. RSM دارای کلاس های متفاوتی است که یکی از آنها طراحی باکس-بنکن است که یک مدل مرتبه دوم بر اساس طرح فاکتوریل سه سطحی می باشد. در این پژوهش رابطه بین متغیرها و پاسخ با استفاده از مدل زیر بیان شد:

$$Y = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_4D + b_{12}AB + b_{13}AC + b_{14}AD + b_{23}BC + b_{24}BD + b_{34}CD + b_{11}A^2 + b_{22}B^2 + b_{33}C^2 + b_{44}D^2 \quad \text{رابطه ۱}$$

که در آن Y پاسخ یا همان متغیر وابسته را نشان می دهد، A ، B و C نشان دهنده تیمارها یا همان متغیرهای مستقل می باشند. AB ، AC و BC اثر متقابل متغیرهای مستقل را نشان می دهد. همچنین A^2 ، B^2 و C^2 عامل مستقل به صورت مربع می باشد. b_0 عرض از مبدا، b_1 ، b_2 و b_3 ضرایب خطی مدل، b_{12} ، b_{13} و b_{23} ضرایب برهمکنش بین عوامل و b_{11} ، b_{22} و b_{33} ضرایب مرتبه دوم مدل هستند. تعداد آزمایش هایی که باید براساس مدل باکس-بنکن انجام شود از طریق معادله زیر محاسبه شد (Ghoneim et al., 2021):

$$N = 2E(E-1) + K_0 \quad \text{رابطه ۲}$$

که در آن E و K_0 به ترتیب تعداد متغیرهای مستقل و تعداد تکرار نقطه مرکزی هستند. طراحی آزمایش و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار Design-Expert 11 برای اجرای RSM انجام شد. سطوح و محدوده های عوامل عملیاتی و طرح آزمایش مبتنی بر RSM در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده اند.

جدول ۳- متغیرهای آزمایش و دامنه و سطوح آنها

متغیر	واحد	۱	۰	دامنه سطوح	۱
A: آلودگی نفت خام	%	۴/۵	۳	۱/۵	۰
B: جریان الکتریکی	V cm ⁻¹	۳	۱/۵	۰	۰
C: نوع عامل بیولوژیک	—	۳ درصد کنسرسیون جلبک (کلرولا)- باکتری (سودوموناس فلئورسانس)	۳ درصد باکتری سودوموناس فلئورسانس	۰	۰
D: رطوبت خاک	%FC	۱۰۰	۸۰	۶۰	۰



جدول ۴- ماتریس طرح باکس-بنکن (BBD) برای متغیرهای مستقل به کاررفته در پژوهش

اجرا	A: آلودگی نفت خام (%wt)	B: جریان الکتریکی ($V\ cm^{-1}$)	C: نوع عامل بیولوژیکی*	D: رطوبت خاک (%FC)
۱	۴/۵	۱/۵	۰	۸۰
۲	۴/۵	۱/۵	۱	۶۰
۳	۳	۳	۱	۶۰
۴	۳	۰	۰	۸۰
۵	۳	۰	۲	۸۰
۶	۱/۵	۳	۱	۸۰
۷	۳	۱/۵	۱	۸۰
۸	۳	۳	۰	۸۰
۹	۳	۱/۵	۰	۶۰
۱۰	۳	۱/۵	۱	۸۰
۱۱	۳	۱/۵	۱	۸۰
۱۲	۳	۱/۵	۲	۶۰
۱۳	۳	۰	۱	۶۰
۱۴	۱/۵	۱/۵	۱	۱۰۰
۱۵	۴/۵	۱/۵	۲	۸۰
۱۶	۳	۰	۱	۱۰۰
۱۷	۴/۵	۱/۵	۱	۱۰۰
۱۸	۱/۵	۱/۵	۰	۸۰
۱۹	۱/۵	۱/۵	۱	۶۰
۲۰	۳	۱/۵	۰	۱۰۰
۲۱	۳	۳	۲	۸۰
۲۲	۱/۵	۱/۵	۲	۸۰
۲۳	۴/۵	۳	۱	۸۰
۲۴	۳	۱/۵	۲	۱۰۰
۲۵	۳	۳	۱	۱۰۰
۲۶	۴/۵	۰	۱	۸۰
۲۷	۱/۵	۰	۱	۸۰

*. سطوح ۰، ۱ و ۲ برای تیمارهای زیستی نشان‌دهنده شاهد، ۳ درصد باکتری (سودوموناس فلورسانس) و ۳ درصد کنسرسیون جلبک (کلرلا)- باکتری (سودوموناس فلورسانس) می‌باشند.

نتایج

پیش‌بینی پارامترها و معیارهای تصفیه آلودگی نفتی و تحلیل مدل RSM

آزمایش‌ها با استفاده از طرح باکس-بنکن (BBD) بهینه‌سازی شدند (جدول ۵). معادلات رگرسیونی برای صفات مورد مطالعه شامل وزن تر و وزن خشک، شاخص سبزیگی، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ گیاه در جدول ۶ ارائه شده‌اند.

تحلیل جامع داده‌های حاصل از جداول و مدل‌ها نشان‌دهنده عملکرد قابل توجه مکانیزم اعمال‌شده در بهبود رشد گیاه و صفات مرتبط است. نتایج به‌طور واضح نشان داد که اعمال جریان الکتریکی و تیمارهای بیولوژیکی تأثیر مثبت و افزایشی بر شاخص‌های رشد گیاه شامل وزن تر و وزن خشک، ارتفاع و مساحت برگ دارند. علاوه بر این، تیمارهای بیولوژیکی به‌طور ویژه موجب افزایش قابل توجه شاخص سبزیگی شدند، در حالی که افزایش غلظت آلودگی نفتی سبب کاهش این پارامترها می‌شود. لازم به ذکر است تأثیر مثبت عامل بیولوژیکی نشان‌دهنده این است که با افزایش سطح تیمار به سمت نوع دوم آن، یعنی کنسرسیون جلبک-باکتری (*Chlorella*-*Pseudomonas fluorescens*)، ویژگی‌های مورد مطالعه به‌طور قابل توجهی بهبود یافته و اثرات برجسته‌تری در صفات رشد و عملکرد گیاه مشاهده شده است.

بررسی دقیق داده‌ها نشان داد مطابق با جدول ۴ بیشینه مقادیر صفات مورد بررسی در این مطالعه در اجرای ۲۲ (آلودگی نفتی ۱/۵ درصد، جریان الکتریکی ۱/۵ ولت بر سانتی‌متر، تیمار بیولوژیکی ۳ درصد کنسرسیون جلبک (کلرلا)-باکتری (سودوموناس فلورسانس)) و

رطوبت خاک ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه) مشاهده شد، در حالی که کمینه وزن تر و خشک گیاه در اجرای ۱ (آلودگی نفتی ۴/۵ درصد، جریان الکتریکی ۱/۵ ولت بر سانتی‌متر، بدون تیمار بیولوژیکی و شرایط رطوبت خاک ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه)، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ در اجرای ۴ (آلودگی نفتی ۳ درصد، بدون جریان الکتریکی و بدون تیمار بیولوژیکی و رطوبت خاک ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه) و شاخص سبزیگی در اجراهای ۲ (به‌ترتیب آلودگی نفتی ۴/۵ درصد، جریان الکتریکی ۱/۵ ولت بر سانتی‌متر، تیمار بیولوژیکی ۳ درصد باکتری سودوموناس فلئورسانس و رطوبت خاک ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه)؛ ۳ (آلودگی نفتی ۳ درصد، جریان الکتریکی ۳ ولت بر سانتی‌متر، تیمار بیولوژیکی ۳ درصد باکتری سودوموناس فلئورسانس و رطوبت خاک ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه)؛ ۱۷ (آلودگی نفتی ۴/۵ درصد، جریان الکتریکی ۱/۵ ولت بر سانتی‌متر، تیمار بیولوژیکی ۳ درصد باکتری سودوموناس فلئورسانس و رطوبت خاک ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه) و ۲۶ (آلودگی نفتی ۴/۵ درصد، بدون جریان الکتریکی، تیمار بیولوژیکی ۳ درصد باکتری سودوموناس فلئورسانس و رطوبت خاک ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه) به دست آمد. این نتایج نشان‌دهنده این مهم است که کاربرد روش نامبرده سبب افزایش شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه و در واقع افزایش کارایی و توان زیستی گیاه در مقابله با شرایط آلودگی نفتی می‌شود.

مدل‌های RSM ارائه‌شده برای هر یک از ویژگی‌های مورد مطالعه شامل وزن تر و وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزیگی قدرت برازش بسیار بالایی از خود نشان دادند. مقادیر ضریب تعیین (R^2) تنظیم‌شده و پیش‌بینی‌شده نزدیک به یک نشان‌دهنده تطابق بسیار زیاد نتایج مدل‌ها با داده‌های واقعی و توانایی خیلی خوب آنها در پیش‌بینی مقادیر این صفات هستند. این نتایج حاکی از آن است که مدل‌های RSM نه تنها تغییرات را به خوبی توصیف می‌کنند، بلکه قادرند رفتار گیاه تحت سطوح مختلف تیمارهای جریان الکتریکی و بیولوژیکی را به‌طور خیلی دقیق پیش‌بینی نمایند. علاوه بر این، تجزیه اثرات متقابل تسمارهای مورد بررسی در مدل‌ها، امکان تحلیل نقش هر عامل و ترکیب‌های آن در بهبود شاخص‌های رشد گیاه و عملکرد گیاه‌پالایی را فراهم می‌کند.

به‌طور کلی، نتایج نشان داد که روش اعمال شده در این پژوهش اثر چشمگیری بر شاخص‌های رشد گیاه دارد. وزن تر و وزن خشک گیاهان به‌طور قابل توجهی افزایش یافت که نشان‌دهنده ارتقای زیتوده و توان تحمل آلودگی نفتی است. همچنین، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ بهبود یافتند که نشان‌دهنده رشد بهتر و توسعه بیشتر سیستم هوایی گیاه هستند. افزون بر این، شاخص سبزیگی به‌طور مشخص تحت تأثیر مثبت تیمارهای بیولوژیکی قرار گرفت که بازتابی از افزایش فعالیت فتوسنتزی و سلامت کلی گیاه است. این نتایج مؤید آن است که چنین فرایندی نه تنها رشد و عملکرد گیاه را بهبود می‌بخشد، بلکه توانایی گیاه در جذب و حذف آلاینده‌های نفتی از خاک را نیز به شکل مؤثری افزایش می‌دهد.

تجزیه واریانس

از نظر آماری، زمانی یک مدل مناسب و قابل اتکا تلقی می‌شود که مقدار p آن کمتر یا مساوی ۰/۰۵ باشد که بیانگر معناداری آماری است. در مقابل، مقدار p بزرگ‌تر از ۰/۰۵ برای آزمون عدم برازش (lack of fit) مطلوب محسوب می‌شود، زیرا نشان می‌دهد مدل با داده‌ها تطابق مناسبی دارد و شواهد کافی برای رد فرض صفر مبنی بر برازش نامناسب وجود ندارد (Teiri et al., 2020). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تمامی مدل‌ها با برخورداری از مقادیر p کم و مقادیر F زیاد، توان بالقوه مناسبی برای پیش‌بینی ویژگی‌های اندازه‌گیری‌شده دارند. این امر بیانگر آن است که مدل‌ها الگوهای معنادار موجود در داده‌ها را به خوبی استخراج کرده و از قابلیت بالایی برای پیش‌بینی برخوردارند (جدول ۷).

نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) ارائه‌شده در جدول ۷ نشان داد که مدل‌های حاصل از روش سطح پاسخ (RSM) برای تمامی صفات مورد مطالعه گیاه چمن برمودا، شامل وزن تر، وزن خشک، شاخص سبزیگی، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ، از معناداری آماری بسیار بالایی برخوردار هستند ($p < 0.0001$). مقادیر بالای آماره F برای مدل‌ها بیانگر آن است که تغییرات این صفات به‌طور مؤثری توسط عوامل مستقل و برهم‌کنش‌های آن‌ها توضیح داده شده‌اند.

در مورد وزن تر گیاه، نتایج نشان داد که آلودگی نفت خام (A)، جریان الکتریکی (B)، نوع تیمار بیولوژیکی (C) و تنش رطوبتی (D)، به همراه اثر متقابل AC و اثرات درجه دو A^2 و D^2 ، تأثیر معناداری بر این ویژگی دارند. مقدار بسیار زیاد F مربوط به عامل آلودگی نفتی نشان می‌دهد که این فاکتور نقش غالبی در تغییرات وزن تر گیاه ایفا می‌کند. عدم معناداری آزمون عدم برازش نیز حاکی از کفایت و برازش مناسب مدل برای توصیف داده‌های تجربی است.



جدول ۵- مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده (واقعی) با مقادیر پیش‌بینی شده توسط طرح یا کس-سینکی (BBD) برای صفات مورد مطالعه شامل وزن تر، وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزینگی گیاه چایرا

وزن تر (گرم در گلدان)		وزن خشک (گرم در گلدان)		شاخص سبزینگی		ارتفاع اندام هوایی (سانتی‌متر)		مساحت برگ (سانتی‌متر مربع در گلدان)	
پیش‌بینی شده	واقعی	پیش‌بینی شده	واقعی	پیش‌بینی شده	واقعی	پیش‌بینی شده	واقعی	پیش‌بینی شده	واقعی
۱	۱۵/۸۵	۱۴/۳۷	۳/۳۳	۴/۰۲	۴۶/۰۰	۲۵/۳۲	۱۵/۷۷	۰/۹۶۳۷	۱/۲۰
۲	۱۷/۲۰	۱۷/۹۳	۶/۱۲	۶/۴۳	۴۳/۰۰	۳۲/۵۹	۱۸/۱۷	۱/۵۵	۱/۵۷
۳	۳۰/۸۵	۳۱/۳۴	۱۲/۴۹	۱۲/۸۸	۳۳/۰۰	۳۷/۳۱	۲۲/۴۹	۱/۸۵	۱/۸۶
۴	۲۰/۰۵	۲۰/۷۸	۷/۱۱	۷/۸۰	۴۴/۰۰	۳۴/۶۷	۱۳/۳۳	۰/۷۵۰	۰/۶۳۳
۵	۳۰/۰۰	۳۰/۶۸	۱۲/۱۸	۱۲/۶۱	۶۱/۰۰	۶۳/۰۸	۳۳/۹۹	۱/۷۰	۱/۹۰
۶	۴۶/۴۰	۴۶/۵۲	۱۹/۱۶	۱۷/۹۹	۴۷/۵۰	۵۱/۸۳	۳۹/۴۲	۳/۵۲	۳/۵۷
۷	۳۷/۵۰	۳۸/۳۵	۱۱/۱۰	۱۱/۵۴	۴۴/۰۰	۳۷/۳۱	۳۰/۱۷	۱/۵۴	۱/۵۶
۸	۲۶/۱۷	۲۶/۰۱	۱۰/۶۶	۱۰/۴۷	۴۴/۰۰	۳۴/۶۷	۱۷/۹۶	۱/۳۰	۱/۳۳
۹	۳۴/۳۵	۳۳/۶۷	۱۰/۱۶	۹/۱۴	۴۶/۰۰	۳۴/۶۷	۱۵/۶۴	۱/۰۲	۰/۹۳۱
۱۰	۲۸/۰۱	۲۸/۳۵	۱۲/۰۱	۱۱/۵۴	۴۵/۰۰	۳۷/۳۱	۳۰/۱۷	۱/۶۰	۱/۵۶
۱۱	۳۷/۷۳	۳۸/۳۵	۱۱/۱۵	۱۱/۵۴	۴۶/۰۰	۳۷/۳۱	۳۰/۱۷	۱/۷۱	۱/۵۶
۱۲	۳۳/۸۰	۳۳/۵۸	۱۳/۵۵	۱۳/۹۵	۶۵/۰۰	۶۳/۰۸	۳۶/۳۱	۱/۹۳	۲/۲۰
۱۳	۲۶/۴۰	۲۶/۰۱	۱۰/۷۶	۱۰/۲۰	۳۷/۲۵	۳۷/۳۱	۱۷/۸۵	۱/۴۰	۱/۳۷
۱۴	۲۶/۹۰	۲۵/۸۷	۱۵/۹۹	۱۶/۶۵	۵۰/۰۰	۵۱/۸۳	۳۶/۳۲	۳/۰۱	۳/۲۷
۱۵	۳۲/۰۰	۳۰/۹۳	۹/۴۴	۸/۸۳	۵۰/۰۰	۵۳/۰۹	۳۲/۱۹	۲/۲۷	۱/۹۴
۱۶	۲۶/۸۹	۳۷/۷۰	۱۰/۸۷	۱۰/۲۰	۵۱/۰۰	۳۷/۳۱	۱۷/۸۵	۱/۳۷	۱/۳۷
۱۷	۱۸/۰۰	۱۹/۶۲	۶/۶۲	۶/۴۳	۳۳/۰۰	۳۲/۵۹	۱۸/۱۷	۱/۶۰	۱/۵۷
۱۸	۳۷/۳۷	۳۷/۲۸	۱۳/۸۸	۱۴/۲۵	۴۵/۰۰	۳۳/۹۱	۳۹/۶۶	۳/۵۵	۲/۳۷
۱۹	۳۴/۰۰	۳۴/۱۸	۱۵/۶۵	۱۶/۶۵	۵۹/۴۰	۵۱/۸۳	۳۶/۳۲	۲/۹۳	۳/۳۷
۲۰	۲۶/۱۵	۲۵/۳۶	۱۰/۴۹	۹/۱۴	۳۳/۰۰	۳۴/۶۷	۱۵/۶۴	۱/۰۵	۰/۹۳۱
۲۱	۳۷/۵۰	۳۵/۹۲	۱۴/۸۲	۱۵/۲۸	۶۵/۰۰	۶۳/۰۸	۲۸/۶۳	۳/۵۰	۲/۴۹
۲۲	۵۰/۱۰	۵۰/۵۲	۳۰/۶۷	۱۹/۰۶	۷۰/۵۰	۷۳/۰۷	۳۴/۵۸	۴/۹۰	۴/۱۶
۲۳	۱۸/۵۰	۲۰/۲۷	۶/۸۹	۷/۷۷	۴۷/۰۰	۳۲/۵۹	۱۹/۷۰	۱/۷۸	۱/۸۷
۲۴	۳۵/۸۸	۳۵/۳۷	۱۳/۸۰	۱۳/۹۵	۶۷/۰۰	۶۳/۰۸	۳۶/۳۱	۱/۹۳	۲/۲۰
۲۵	۳۳/۹۲	۳۲/۹۳	۱۲/۸۲	۱۲/۸۸	۴۴/۰۰	۳۷/۳۱	۳۲/۴۹	۱/۸۰	۱/۸۶
۲۶	۱۶/۶۰	۱۵/۰۳	۵/۷۴	۵/۰۹	۴۳/۰۰	۳۲/۵۹	۱۶/۶۴	۱/۲۵	۱/۳۷
۲۷	۴۰/۹۷	۳۱/۳۸	۱۴/۱۳	۱۵/۳۳	۵۵/۰۰	۵۱/۸۳	۳۳/۳۱	۳/۷۰	۲/۹۷

جدول ۶- نتایج مدل‌سازی برای صفات مورد مطالعه شامل وزن تر، وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزی‌نگی گیاه چایرا

ویژگی	R ² تنظیم‌شده	R ² پیش‌بینی‌شده	مدل RSM کدشده
وزن تر (گرم در گلدان)	۰/۹۸۸۸	۰/۹۸۱۱	$= 28/35 - 13/12 A + 2/62 B + 4/95 C + 0/845 D - 1/67 AC + 2/43 A^2 + 1/12 D^2$
وزن خشک (گرم در گلدان)	۰/۹۶۰۷	۰/۹۴۹۶	$= 11/54 - 5/11 A + 1/34 B + 2/40 C$
شاخص سبزی‌نگی	۰/۸۶۴۳	۰/۸۳۳۱	$= 47/21 - 4/62 A + 9/21 C - 5/38 AC + 6/67 C^2$
ارتفاع اندام هوایی (سانتی‌متر)	۰/۹۹۳۳	۰/۹۸۷۷	$= 20/17 - 9/07 A + 2/32 B + 5/33 C - 0/7875 AB - 2/12 AC + 7/07 A^2 + 0/8047 C^2$
مساحت برگ (سانتی‌متر مربع در گلدان)	۰/۹۲۴۱	۰/۸۲۰۴	$= 1/56 - 0/8494 A + 0/2981 B + 0/6326 C - 0/2609 AC + 0/8558 A^2$

* حروف A، B، C و D به ترتیب نشان‌دهنده آلودگی نفت خام (درصد وزنی)، جریان الکتریکی (ولت بر سانتی‌متر)، نوع تیمار زیستی (درصد وزنی) و سطح رطوبت خاک (درصد ظرفیت مزرعه‌ای، FC) هستند. منظور از R² تنظیم‌شده و R² پیش‌بینی‌شده به ترتیب Adjusted R² و Predicted R² می‌باشد.

برای وزن خشک گیاه، مدل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر عوامل آلودگی نفتی، جریان الکتریکی و تیمار بیولوژیکی قرار گرفت ($p < 0.0001$). نتایج نشان داد که آلودگی نفتی بیشترین سهم را در تغییرات این صفت دارد، در حالی که جریان الکتریکی و عامل بیولوژیکی نیز اثرات مثبت و معناداری از خود نشان دادند. غیر معنادار بودن آزمون عدم برازش بیانگر قابلیت بالای مدل در پیش‌بینی وزن خشک گیاه است.

تحلیل واریانس شاخص سبزی‌نگی نشان داد که این ویژگی به‌طور معناداری تحت تأثیر آلودگی نفتی و به‌ویژه نوع تیمار بیولوژیکی قرار دارد، به‌گونه‌ای که عامل بیولوژیکی بیشترین سهم را در تغییرات این شاخص نشان داد. همچنین اثر متقابل AC و اثر درجه دوم C² نیز معنادار بودند که بیانگر نقش مهم تیمارهای بیولوژیکی در بهبود وضعیت فتوسنتزی گیاه است. غیر معنادار بودن آزمون عدم برازش، نیز دقت مناسب مدل را تأیید می‌کند.

در خصوص ارتفاع اندام هوایی گیاه، نتایج ANOVA حاکی از تأثیر بسیار معنی‌دار آلودگی نفتی، جریان الکتریکی و تیمار بیولوژیکی، به همراه اثرات متقابل AB و AC و اثرات درجه دوم A² و C² بود. مقادیر بسیار زیاد F نشان‌دهنده حساسیت زیاد این ویژگی به تغییرات تیمارها و نقش کلیدی آلودگی نفتی در محدودسازی رشد طولی گیاه است. غیر معنادار بودن آزمون عدم برازش نیز بیانگر برازش بسیار مناسب مدل می‌باشد.

برای مساحت برگ نیز مدل RSM به‌طور معنی‌داری قادر به توصیف تغییرات این صفت بود. آلودگی نفتی، جریان الکتریکی و تیمار بیولوژیکی اثرات معناداری بر مساحت برگ داشتند و اثر متقابل AC و اثر درجه دوم A² نیز نقش مهمی در تغییرات این پارامتر ایفا کردند. نتایج آزمون عدم برازش نیز نشان داد که مدل از دقت کافی برای پیش‌بینی این صفت برخوردار است.

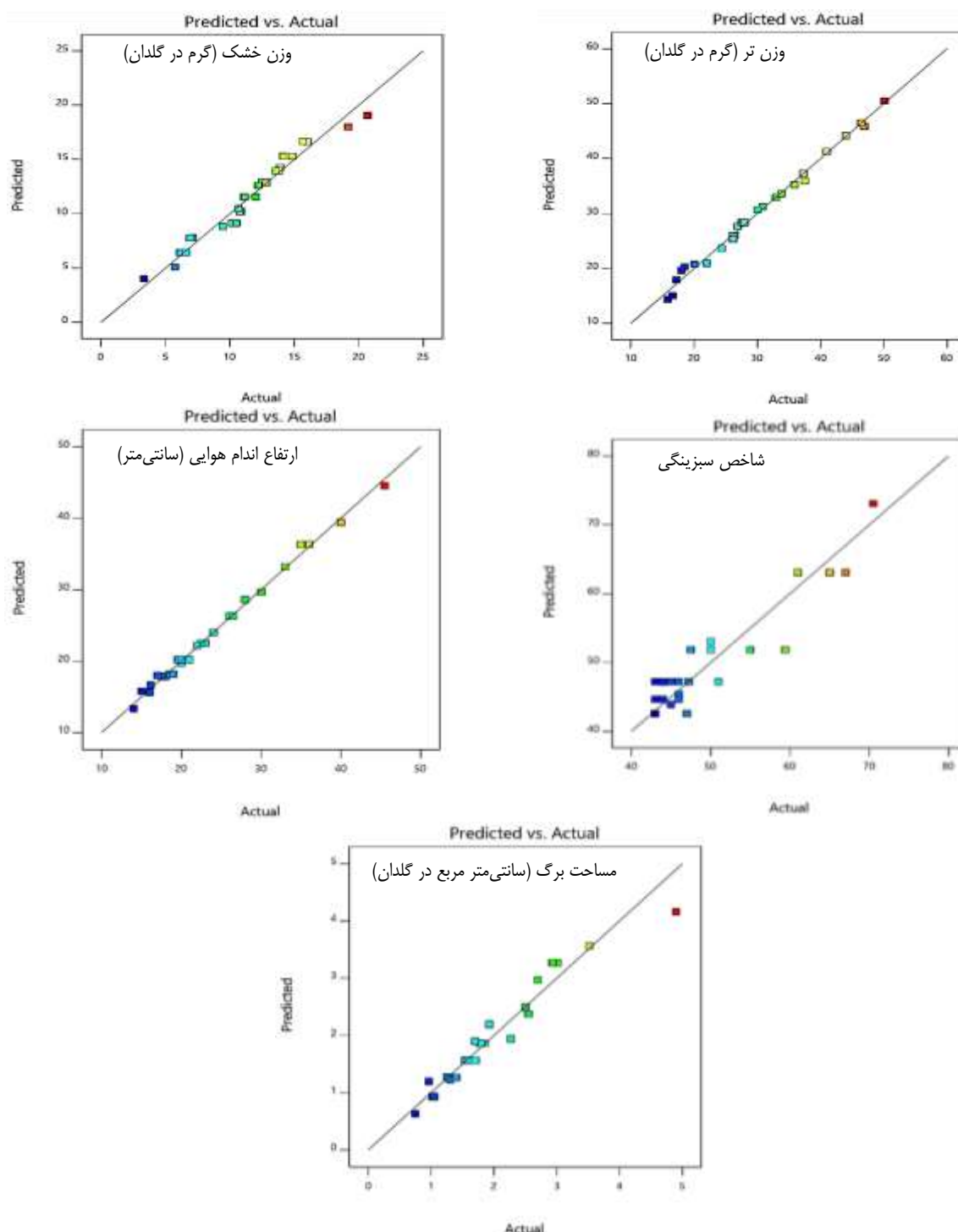
به طور کلی، نتایج تجزیه واریانس تأیید می‌کند که مدل‌های توسعه‌یافته RSM از اعتبار آماری بالا، برازش مناسب و توان پیش‌بینی مطلوب برای کلیه صفات گیاهی مورد مطالعه برخوردار بوده و می‌توانند به‌عنوان ابزاری قابل اعتماد برای تحلیل و بهینه‌سازی پاسخ گیاه چمن برمودا تحت شرایط آلودگی نفتی و تیمارهای اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند. مجموعه مدل‌های توسعه‌یافته در این پژوهش، درک دقیقی از برهم‌کنش‌های پیچیده میان اثر تیمارهای مورد مطالعه بر پاسخ‌های فیزیولوژیک و رشدی چمن برمودا در شرایط آلودگی نفتی فراهم می‌کند. مقادیر بالای ضرایب تعیین و برازش مناسب مدل‌ها نشان‌دهنده دقت و پایداری آن‌ها در توصیف و پیش‌بینی تغییرات شاخص‌های رشد گیاه، از جمله وزن تر و وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزی‌نگی است. این نتایج نشان می‌دهد که رویکرد تلفیقی بیوالکتروسینتتیک به‌کاررفته، ابزاری کارآمد برای بهینه‌سازی رشد گیاه و افزایش کارایی فرایندهای گیاه‌پالایی در خاک‌های آلوده به نفت محسوب می‌شود. به طور کلی، روابط شناسایی‌شده و سطوح بهینه عوامل، مبنای علمی قابل اعتمادی برای طراحی راهبردهای مؤثر، هدفمند و پایدار در مدیریت خاک‌های آلوده فراهم می‌سازد و می‌تواند مسیر پژوهش‌های آینده را به سمت ارزیابی میدانی و توسعه سامانه‌های زیست‌پالایی پیشرفته‌تر هدایت کند.

بر اساس مطالعات پیشین، زمانی یک مدل از کفایت بالایی برخوردار است که نقاط داده در نمودار مقادیر اندازه‌گیری‌شده در برابر مقادیر پیش‌بینی‌شده، انطباق نزدیکی با خط یک به یک داشته باشند. شکل ۳ با نمایش تمرکز قابل توجه نقاط در امتداد خط یک به یک، به‌خوبی تطابق بالای میان مقادیر پیش‌بینی‌شده و اندازه‌گیری‌شده را نشان داده و دقت و قابلیت اطمینان بالای مدل را تأیید می‌کند.



جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) برای مدل‌های توصیف‌کننده اثر تیمارهای اعمال‌شده بر ویژگی‌های مورد مطالعه گیاه چمن برموداگراس

Source	Sum of squares	DF	Mean square	F-value	P-value	
وزن تر (گرم در گلدان)						
Model	۲۵۰۳/۸۰	۷	۳۵۷/۶۹	۳۲۸/۸۵	۰/۰۰۰۱<	Significant
A-Crude oil pollution	۲۰۶۶/۹۳	۱	۲۰۶۶/۹۳	۱۹۰۰/۳۲	۰/۰۰۰۱<	
B-Electric current	۸۲/۳۲	۱	۸۲/۳۲	۷۵/۶۸	۰/۰۰۰۱<	
C-type of biological factor	۲۹۴/۴۳	۱	۲۹۴/۴۳	۲۷۰/۶۹	۰/۰۰۰۱<	
D-Moisture stress	۸/۵۷	۱	۸/۵۷	۷/۸۸	۰/۰۱۱۳	
AC	۱۱/۱۶	۱	۱۱/۱۶	۱۰/۲۶	۰/۰۰۴۷	
A ²	۳۷/۷۱	۱	۳۷/۷۱	۳۴/۶۷	۰/۰۰۰۱<	
D ²	۸/۰۴	۱	۸/۰۴	۷/۴۰	۰/۰۱۳۶	
Residual	۲۰/۶۷	۱۹	۱/۰۹			
Lack of Fit	۲۰/۵۳	۱۷	۱/۲۱	۱۸/۴۶	۰/۰۵۲۶	not significant
Pure Error	۰/۱۳۰۹	۲	۰/۰۶۵۴			
Cor Total	۲۵۲۴/۴۷	۲۶				
وزن خشک (گرم در گلدان)						
Model	۴۰۴/۶۴	۳	۱۳۴/۸۸	۲۱۲/۹۰	۰/۰۰۰۱<	Significant
A-Crude oil pollution	۳۱۲/۷۴	۱	۳۱۲/۷۴	۴۹۵/۲۲	۰/۰۰۰۱<	
B-Electric current	۲۱/۵۱	۱	۲۱/۵۱	۳۲/۹۵	۰/۰۰۰۱<	
C-type of biological factor	۶۹/۳۸	۱	۶۹/۳۸	۱۰۹/۵۲	۰/۰۰۰۱<	
Residual	۱۴/۵۷	۲۳	۰/۶۳۳۵			
Lack of Fit	۱۴/۰۵	۲۱	۰/۶۶۸۹	۲/۵۶	۰/۳۱۸۹	not significant
Pure Error	۰/۵۲۳۴	۲	۰/۲۶۱۷			
Cor Total	۴۱۹/۲۱	۲۶				
شاخص سبزی‌نگی						
Model	۱۶۸۴/۹۹	۴	۴۲۱/۲۵	۴۲/۳۹	۰/۰۰۰۱<	Significant
A-Crude oil pollution	۲۵۵/۷۶	۱	۲۵۵/۷۶	۲۵/۷۴	۰/۰۰۰۱<	
C-Type of biological factor	۱۰۱۷/۵۲	۱	۱۰۱۷/۵۲	۱۰۲/۳۹	۰/۰۰۰۱<	
AC	۱۱۵/۵۶	۱	۱۱۵/۵۶	۱۱/۶۳	۰/۰۰۲۵	
C ²	۲۹۶/۱۵	۱	۲۹۶/۱۵	۲۹/۸۰	۰/۰۰۰۱<	
Residual	۲۱۸/۶۳	۲۲	۹/۹۴			
Lack of Fit	۲۱۶/۶۳	۲۰	۱۰/۸۳	۱۰/۸۳	۰/۰۸۷۸	not significant
Pure Error	۲/۰۰	۲	۱/۰۰۰۰			
Cor Total	۱۹۰۳/۶۲	۲۶				
ارتفاع اندام هوایی (سانتی‌متر)						
Model	۱۷۳۶/۳۴	۷	۲۴۸/۰۵	۵۴۸/۵۶	۰/۰۰۰۱<	significant
A-Crude oil pollution	۹۸۷/۳۶	۱	۹۸۷/۳۶	۲۱۸۳/۵۴	۰/۰۰۰۱<	
B-Electric current	۶۴/۴۰	۱	۶۴/۴۰	۱۴۲/۴۳	۰/۰۰۰۱<	
C-Type of biological factor	۳۴۱/۳۳	۱	۳۴۱/۳۳	۷۵۴/۸۶	۰/۰۰۰۱<	
AB	۲/۴۸	۱	۲/۴۸	۵/۴۹	۰/۰۳۰۲	
AC	۱۸/۰۶	۱	۱۸/۰۶	۳۹/۹۵	۰/۰۰۰۱<	
A ²	۳۲۰/۲۱	۱	۳۲۰/۲۱	۷۰۸/۱۵	۰/۰۰۰۱<	
C ²	۴/۱۴	۱	۴/۱۴	۹/۱۶	۰/۰۰۶۹	
Residual	۸/۵۹	۱۹	۰/۴۵۲۲			
Lack of Fit	۷/۴۹	۱۷	۰/۴۴۰۶	۰/۷۹۹۸	۰/۶۸۸۵	not significant
Pure Error	۱/۱۰	۲	۰/۵۵۰۸			
Cor Total	۱۷۴۴/۹۳	۲۶				
مساحت برگ (سانتی‌متر مربع در گلدان)						
Model	۱۹/۶۸	۵	۳/۹۴	۶۴/۳۴	۰/۰۰۰۱<	significant
A-Crude oil pollution	۸/۶۶	۱	۸/۶۶	۱۴۱/۵۲	۰/۰۰۰۱<	
B-Electric current	۱/۰۷	۱	۱/۰۷	۱۷/۴۳	۰/۰۰۰۴	
C-Type of biological factor	۴/۸۰	۱	۴/۸۰	۷۸/۴۹	۰/۰۰۰۱<	
AC	۰/۲۷۲۴	۱	۰/۲۷۲۴	۴/۴۵	۰/۰۴۷۰	
A ²	۴/۸۸	۱	۴/۸۸	۷۹/۷۹	۰/۰۰۰۱<	
Residual	۱/۲۸	۲۱	۰/۰۶۱۲			
Lack of Fit	۱/۲۷	۱۹	۰/۰۶۶۹	۹/۱۸	۰/۱۰۲۶	not significant
Pure Error	۰/۰۱۴۶	۲	۰/۰۰۷۳			
Cor Total	۲۰/۹۷	۲۶				

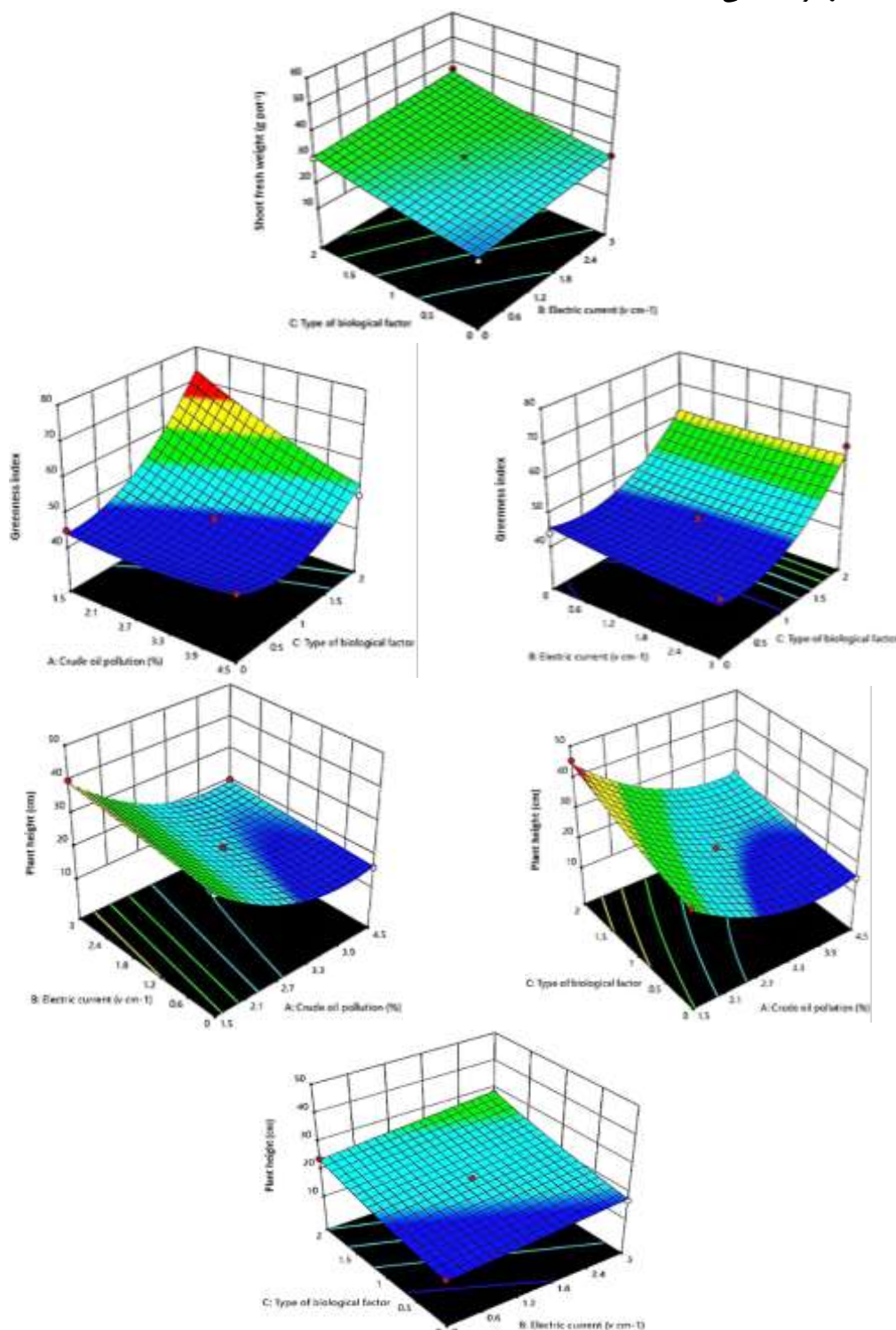


شکل ۳- رابطه بین داده‌های اندازه‌گیری شده و پیش‌بینی شده با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)؛ نقاط رنگی بر اساس مقادیر مشخص شده پارامترها

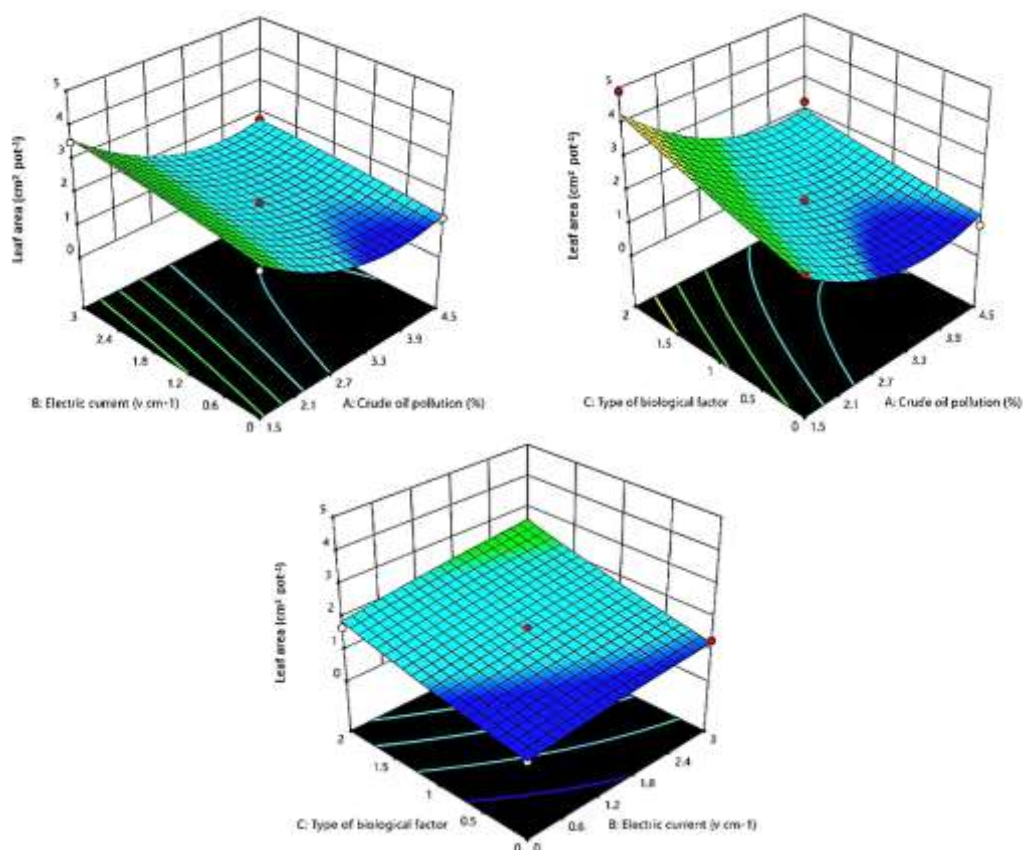
نمودارهای سطح پاسخ

تأثیر عوامل مستقل شامل آلودگی نفتی، جریان الکتریکی و نوع تیمار بیولوژیکی بر شاخص‌های رشد گیاه و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر پاسخ‌های اندازه‌گیری شده، از جمله وزن تر و وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزیگی، بر اساس نوع مدل به‌دست‌آمده (خطی یا درجه دوم) با کمک نمودارهای سه‌بعدی سطح پاسخ برای هر پارامتر قابل تبیین است (شکل ۴). در این راستا، از نمودارهای آشفستگی نیز برای بررسی تغییرات وزن خشک گیاه استفاده شد (شکل ۵). همان‌گونه که در شکل ۴ نشان داده شده است، اثرات هم‌افزایی قابل توجهی مشاهده شد. تعامل بین سطوح آلودگی نفتی و کاربردهای جداگانه الکتروسینتیک و زیست‌پالایی، و همچنین کاربرد

ترکیبی هر دو روش پاکسازی، تأثیر قابل توجهی را بر چهار پارامتر اندازه‌گیری شده وزن تر و وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزی‌نگی نشان داد. تعامل بین آلودگی نفتی و هر عامل پاکسازی به صورت جداگانه، الگوی معنی‌داری را نشان داد. این روند در پاسخ به اثرات مستقل هر عامل پالایش اعمال شده تشدید شد، در حالی که برهمکنش‌های ترکیبی آنها به طور مؤثری اثرات نامطلوب آلاینده نفتی و سمیت آن را کاهش داد. علاوه بر این، هنگامی که الکتروسینتیک و زیست‌پالایی با هم استفاده شدند، افزایش قابل توجهی در وزن تر، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزی‌نگی حاصل شد. این نتیجه، اثربخشی رویکرد یکپارچه بیو-الکتروسینتیک مورد استفاده در این مطالعه را برجسته می‌کند.

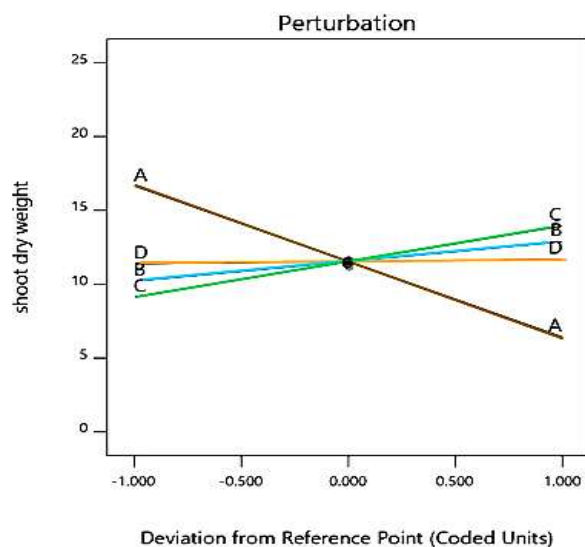


شکل ۴- نمودار سه‌بعدی سطح پاسخ (RSM) برهم‌کنش عوامل مؤثر بر ویژگی‌های مورد مطالعه شامل وزن تر، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزی‌نگی چمن برمودا



ادامه شکل ۴- نمودار سه‌بعدی سطح پاسخ (RSM) برهم‌کنش عوامل مؤثر بر ویژگی‌های مورد مطالعه شامل وزن تر، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزی‌نگی چمن برمودا

در نمودار آشفته‌گی مربوط به وزن خشک (شکل ۵) نیز مشاهده شد که عامل بیولوژیکی (C) تأثیر بسیار مثبت و چشمگیری دارد؛ به‌گونه‌ای که افزایش تیمار به سمت نوع دوم (کنسرسیوم جلبک-باکتری) موجب ارتقای محسوس وزن خشک گیاه شد. همچنین تأثیر مثبت و افزایشی تیمار جریان الکتریکی (B) بر این ویژگی قابل مشاهده است، در حالی که افزایش غلظت آلودگی نفتی (A) این صفت را کاهش می‌دهد. قابل ذکر است که رطوبت خاک (D)، تأثیر قابل توجه و معنی‌داری از خود نشان نداد.



شکل ۵- نمودار آشفته‌گی (Perturbation) سطح پاسخ (RSM) برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه بر وزن خشک اندام هوایی چمن برمودا (گرم بر گلدان).

A، B، C و D به‌ترتیب نشان‌دهنده آلودگی نفت خام، جریان الکتریکی، نوع تیمار بیولوژیکی و رطوبت خاک هستند.



بحث

اثر آلودگی نفتی بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه

ارزیابی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه در سامانه یکپارچه الکتروسینتیک-زیست‌پالایی، شاخصی کلیدی برای سنجش کارایی و پایداری فرآیند پالایش خاک‌های آلوده به نفت محسوب می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که هم‌افزایی میان میدان الکتریکی، فعالیت کنسرسیوم میکروبی-جلبکی و توان گیاه در جذب و تحمل آلاینده‌ها، منجر به بهبود معنادار شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه شد؛ امری که بیانگر کاهش تنش نفتی و بهبود شرایط زیست‌پذیری خاک است.

همانطور که مدل‌ها و نمودارها نشان دادند، نتایج این پژوهش حاکی از تاثیر منفی آلودگی و کاهش شاخص‌های رشد در پی افزایش غلظت نفت خام بود. گزارش‌هایی در ارتباط با کاهش رشد و تولید زیست توده گیاهی در خاک آلوده به نفت خام وجود دارد (Adam & Duncan, 2002; Bakina et al., 2022; da Silva Correa et al., 2022; Polyak et al., 2024). آن، اثر منفی بر جوانه‌زنی بذر گیاهان دارند. اثر منفی نفت خام بر جوانه زنی بذر می‌تواند از اثرات سمی آن و یا از طریق شرایط نامساعد خاک ناشی شود (Achuba, 2006; Bakina et al., 2022; da Silva Correa et al., 2022). نفت خام ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک را از طریق کاهش در قابلیت دسترسی آب، عناصر غذایی و اکسیژن تغییر می‌دهد (Baker, 1970; Daryaei et al., 2024). Wang و همکاران (2011) اظهار داشتند که آلودگی محیطی به دلیل ایجاد ناهنجاری در روزه‌ها، سبب ناهنجاری‌های مورفولوژیکی و همچنین سبب کاهش زیست توده گیاهان می‌شود. در بررسی تأثیر آلودگی نفت خام در لوبیا چشم بلبلی؛ کاهش فعالیت آمیلاز همراه با افزایش میزان نفت خام مشاهده شد. این آنزیم با تبدیل نشاسته به مونوساکاریدها، انرژی و کربن مورد نیاز برای تنفس و سنتز ترکیبات بیشمار برای رشد و جوانه‌زنی را فراهم می‌کند (Anigboro & Tonukari, 2008; Lal & Bhatla, 2023). در مطالعاتی نشان داده شده است که سطوح آلودگی نفتی به میزان قابل توجهی طول ساقه و طول ریشه گیاه باقلا (*Faba vulgaris*) را کاهش داده است (لرستانی و همکاران، ۱۳۹۱ و Alavi et al., 2023). همچنین در پژوهشی بر روی گیاه *Amaranthus hybridus*، نفت خام منجر به کاهش ویژگی‌های رشد مانند ارتفاع گیاه، تعداد برگ‌ها، وزن تر و خشک گیاه در شرایط آزمایشگاه شد که ممکن است به دلیل ایجاد شرایط خشکی فیزیولوژیکی نیز باشد که سبب کوچک‌تر شدن سلول‌ها در پی کاهش آب اتفاق افتاده باشد (Omosun et al., 2008). در تبیین اثرات منفی آلودگی نفتی بر گیاهان، شواهد متعدد نشان می‌دهد که حضور نفت در خاک از دو مسیر فیزیکی و شیمیایی موجب اختلال در رشد و عملکرد فیزیولوژیک گیاه می‌شود. از یک سو، پوشش اندام‌های هوایی با لایه‌های نفتی می‌تواند دریافت نور لازم برای فتوسنتز را محدود کرده و با ایجاد اختلال در تبادل گازی خاک، تهویه ریشه را کاهش دهد (Anigboro & Tonukari, 2008; da Silva Correa et al., 2022; Duan et al., 2023). از سوی دیگر، آلاینده‌هایی نظیر فلزات سنگین و هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای با برهم‌زدن تعادل متابولیکی، رشد و نمو گیاه را به‌تدریج تضعیف می‌کنند (Meudec et al., 2007). پیامد این شرایط، کاهش شاخص‌های رشدی شامل ارتفاع گیاه، تعداد و سطح برگ، وزن تر و وزن خشک، زردی برگ‌ها، مرگ سلولی و کاهش زیست‌توده ریشه گزارش شده است (Omosun et al., 2008). همچنین افت رنگیزه‌های فتوسنتزی (Malallah et al., 1998; Zeb et al., 2022; Akpobaro & Adeyemi, 2026) و کاهش جذب عناصر غذایی (Rosso et al., 2005; da Silva Correa et al., 2022) از دیگر نتایج تنش نفتی است. مهرآبادی عسکری و همکاران (۱۳۹۰) کاهش ۲۴/۸۹ تا ۸۹/۶۸ درصدی ارتفاع اقلایا در تیمارهای نفتی نسبت به شاهد را نشان‌دهنده اثر بازدارندگی نفت خام بر این شاخص رشدی بیان کردند. مشابه کاهش ارتفاع گیاه ذرت در خاک آلوده به نفت که از نظر محققان به دلیل عدم تهویه خاک است با کاهش دسترسی آب و مواد غذایی، سبب توقف رشد، کوتاهی گیاه و پژمردگی گیاه می‌شود (Agbogidi & Eshghebeyi, 2006; da Silva Correa et al., 2022; Wyszkowski et al., 2022; Otugboyege & Adeyemi, 2025). حتی برخی اجزای نفت خام با تخریب غشاهای زیستی، یکپارچگی ساختار ریشه را مختل می‌کنند (Maila and Cloete, 2002; da Silva Correa et al., 2022; Polyak et al., 2024). به عبارتی خواص هیدروفوبیک نفت، توانایی رطوبتی رسوبات را کاهش داده، بنابراین، آب و مواد غذایی در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرد (Meudec et al., 2007) و سبب ایجاد تنش آبی می‌شود و تنش آبی، نمو برگ را به دو طریق، کاهش در اندازه و تعداد سلول محدود می‌کند (Peretiemo-Clarke & Achuba, 2007). بررسی‌های اخیر، تأخیر در شروع تولید برگ، کلروز، کاهش سطح و کاهش وزن تر و خشک گیاهان موجود در خاک آلوده به نفت را نشان داد. محققان بر نقش آلودگی نفتی خاک بر فرآیندهایی مانند آغاز برگ‌دهی، توسعه سطح برگ و توانایی فتوسنتز تأکید دارند که دلیل آن را محدودیت جذب آب توسط ریشه ذکر کرده‌اند (Agbogidi et al., 2007; Peretiemo-Clarke & Achuba, 2007).

منجر شود (Smith et al., 1989; Sharma & Kumar, 2023; Wang et al., 2025). بروز کلروز، کاهش ارتفاع ساقه و شل شدن و مرگ ساقه *Salicornia virginica* نمونه‌ای از این تنش‌هاست (Rosso et al., 2005; Askary Mehrabadi et al., 2011; Sharma & Kumar, 2023; Wang et al., 2025). در این راستا عسکری مهرآبادی و همکاران (۱۳۹۰) نیز کاهش ۴۰ تا ۹۹ درصدی وزن تر و خشک برگ، ساقه، بخش هوایی و کل اقلای نسبت به شاهد را وابسته به غلظت نفت خام موجود در خاک گزارش کردند. محققان دلیل این کاهش را، خواص آب‌گریزی ترکیبات هیدروکربنی می‌دانند که با کاهش رطوبت، به اختلال در نمو ریشه‌ها و کاهش جذب آب و مواد غذایی و به دنبال آن اختلال در هدایت آن به سایر بخش‌ها و در نتیجه کاهش رشد تمامی بخش‌ها منجر می‌شود (Chaineau et al., 1997; Palmroth et al., 2002; da Silva Correa et al., 2022).

همچنین نتایج نشان داد با افزایش غلظت نفت خام، شاخص سبزیگی (کلروفیل) کاهش یافت. کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها متناسب با افزایش نفت خاک در بادام زمینی نیز گزارش شده است (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007; Ugbeni et al., 2022). هیدروکربن‌های پلی‌سیکلیک آروماتیک، انتقال الکترون را از طریق آسیب به پلاستوکینون‌ها مسدود می‌کنند و بدین وسیله مانع جریان الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I می‌شوند و در نتیجه، سبب اشباع بیش از حد PSII از الکترون و اکسیداسیون فتوشیمیایی کمپلکس‌های حاصل از نور که پیوند با کلروفیل b دارند، می‌شوند و در نهایت سبب افزایش حساسیت به نور در گیاه می‌شوند (Huang et al., 2004). افزایش نسبت کلروفیل a/b در تنش سموم شیمیایی گزارش شده است. تأثیرات بنزوپیرین در فتوستنز و تنفس گیاه از طریق آسیب به کلروفیل و بازدارندگی آنزیمی در انتقال الکترون مشاهده شده است (Meudec et al., 2007; Tulkova et al., 2022; Hu et al., 2023; Zhang et al., 2024). کاهش میزان کلروفیل در *Corchorus olitorius* متناسب با افزایش میزان تنش آلودگی نفتی نیز گزارش شده است (Clementina et al., 2008; Sule et al., 2025). در نتیجه نفت خام می‌تواند سبب القای تنش‌های محیطی در گیاه شود و کاهش شاخص‌های مورد مطالعه نیز به‌ویژه در مراحل اولیه رشد نشان دهنده این مسئله می‌باشد.

اثر سامانه تلفیقی الکتروسینتیک-زیست‌پالایی بر وزن تر و وزن خشک گیاه

اگرچه نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش شدت آلودگی نفتی، وزن تر و وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزیگی کاهش یافت؛ یافته‌ای که با گزارش‌های پیشین همسو است و بیانگر تشدید تنش فیزیولوژیک، اختلال در فتوستنز و محدودیت جذب آب و عناصر غذایی در حضور هیدروکربن‌های نفتی می‌باشد. با این حال، کاربرد سامانه یکپارچه الکتروسینتیک-زیستی در این مطالعه توانست اثرات سمیت نفت را به‌طور معناداری تعدیل کند.

در تیمارهای تلفیقی، به‌ویژه در حضور کنسرسیون جلبک-باکتری همراه با اعمال جریان الکتریکی، افزایش معنی‌دار وزن تر و وزن خشک مشاهده شد. افزایش وزن تر نشان‌دهنده بهبود وضعیت آبی، حفظ تورژسانس و ارتقای تعادل اسمزی گیاه است؛ امری که می‌تواند ناشی از تسهیل جابه‌جایی یون‌ها و ترکیبات محلول در محیط ریشه تحت تأثیر میدان الکتریکی باشد (Saini et al., 2021; Rocha et al., 2019). از سوی دیگر، وزن خشک گیاه که شاخصی پایدارتر برای ارزیابی تجمع زیست‌توده و کارایی فتوستنزی محسوب می‌شود، افزایش قابل توجهی را در تیمارهای تلفیقی نشان داد. افزایش وزن خشک بیانگر آن است که انرژی جذب‌شده توسط گیاه به‌جای مصرف شدن در پاسخ‌های دفاعی، عمدتاً در مسیر رشد ساختاری و تولید ماده خشک هدایت شده است. این موضوع می‌تواند حاکی از کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود عملکرد سیستم فتوستنزی در اثر کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی در خاک می‌باشد؛ این نتایج با مطالعاتی که افزایش بیوماس را شاخص کاهش تنش محیطی و بهبود عملکرد گیاه‌پالایی دانسته‌اند همخوانی دارد (Razmjoo & Adavi, 2012; Song et al., 2022; Iqbal et al., 2024). به عبارتی در پژوهش حاضر، کاربرد سامانه یکپارچه الکتروسینتیک-زیست‌پالایی (متکی بر کنسرسیون میکروبی-جلبکی) منجر به بهبود معنادار در شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه در خاک‌های آلوده به نفت شد. این یافته‌ها با نتایج گزارش‌شده در مطالعات پیشین که از رویکردهای تلفیقی مشابه برای تقویت پالایش استفاده کرده‌اند، همسویی دارد. در همین راستا، Li و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که استفاده از سیستم الکتروسینتیک-گیاهی با اعمال ولتاژ DC، نه تنها منجر به حذف مؤثرتر آلاینده‌های PAH شد، بلکه با تحریک ترشح اگزودای ریشه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند کاتالاز) در خاک ریزوسفر، موجب بهبود قابل توجهی در شاخص‌های رشد ریشه شد. نتایج پژوهش حاضر نیز مشابه این مطالعه، افزایش شاخص‌های فیزیولوژیک و رشدی را در حضور میدان الکتریکی نشان داد که می‌تواند ناشی از تسهیل جذب عناصر غذایی و کاهش تنش آلودگی به واسطه فعالیت کنسرسیون میکروبی-جلبکی در کنار اثرات الکتروسینتیکی باشد. همچنین، پژوهش انجام‌شده توسط Huang و همکاران (۲۰۱۹) بر روی گیاه چمن چچم (Ray



grass) نیز تأییدکننده این است که اعمال میدان الکتریکی (از طریق معکوس کردن پلاریته)، پتانسیل انتقال باکتری‌های ریزوسفری به سایر بخش‌های خاک و بهبود فعالیت میکروبی را فراهم می‌آورد که در نهایت به بهبود وضعیت رشدی گیاه در خاک آلوده منجر می‌شود. در مطالعه حاضر، نیز مشاهده شد که استقرار کنسرسیوم میکروبی-جلبکی در سامانه الکتروسینتیک، با بهبود شرایط محیط ریزوسفر و کاهش بار سمی آلاینده‌ها، بستری مناسب برای ارتقای وزن تر، وزن خشک و شاخص‌های سبزیگی گیاه ایجاد نموده است که این بهبود عملکرد، مؤید کارآمدی رویکردهای تلفیقی در احیای گیاهان در محیط‌های آلوده است.

اثر سامانه تلفیقی الکتروسینتیک-زیست‌پالایی بر مساحت برگ و ارتفاع گیاه

مساحت برگ نیز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کارکرد فتوسنتزی، به‌طور معناداری تحت تأثیر بهینه‌سازی چندفازی سامانه مورد مطالعه قرار گرفت. افزایش سطح برگ، امکان جذب بیشتر نور و افزایش نرخ فتوسنتز را فراهم کرده و نشان‌دهنده بهبود وضعیت تغذیه‌ای و فیزیولوژیک گیاه است. کاهش اثرات بازدارنده هیدروکربن‌های نفتی بر تقسیم و طول‌شدن سلولی برگ‌ها، نقش مهمی در این افزایش ایفا کرده است و از سوی دیگر، ارتفاع اندام هوایی گیاه نیز به‌عنوان شاخصی از رشد رویشی و انتقال مؤثر مواد فتوسنتزی، روند افزایشی مشخصی را در شرایط بهینه نشان داد. افزایش ارتفاع نشان‌دهنده عملکرد مناسب سیستم آوندی و کاهش محدودیت‌های ناشی از سمیت نفتی بر رشد طولی ساقه است. این نتیجه مؤید آن است که سامانه تلفیقی مورد استفاده، نه‌تنها موجب کاهش آلودگی خاک شده، بلکه شرایط را برای رشد متوازن بخش‌های هوایی گیاه نیز فراهم کرده است (Nemati et al., 2019) و کوهکن و همکاران، (۱۳۹۹).

اثر سامانه تلفیقی الکتروسینتیک-زیست‌پالایی بر شاخص سبزیگی

در نهایت، شاخص سبزیگی که مرتبط با محتوای کلروفیل برگ است و به‌عنوان شاخص مستقیم سلامت فتوسنتزی می‌باشد، افزایش معنی‌داری را در تیمارهای بهینه‌شده نشان داد. حفظ و افزایش کلروفیل نشان‌دهنده حفظ ساختار کلروپلاست‌ها، کاهش تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی و بهبود عملکرد فتوسیستم‌ها در مواجهه با تنش نفتی است. فعالیت کنسرسیوم میکروبی-جلبکی، با کاهش ترکیبات سمی و تعدیل شرایط شیمیایی خاک، نقش مؤثری در پایداری ساختار کلروفیل و افزایش توان فتوسنتزی گیاه از طریق کاهش سمیت و افزایش دسترسی عناصر غذایی ایفا کرده است (Sivasakthi et al., 2014; Etesami & Maheshwari, 2018; Babich et al., 2022). به‌عبارتی اثرات مفید کنسرسیوم میکروبی-جلبکی مورد مطالعه بر شاخص سبزیگی می‌تواند به دلیل افزایش توانایی گیاه در حضور باکتری و افزایش توان و تغذیه باکتری در حضور بایومس خشک جلبک، در تغییر ترکیبات نفتی باشد که سبب کاهش سمیت این ترکیبات می‌شود و همچنین مشارکت آن‌ها در افزایش جذب نیتروژن در گیاه و تولید هورمون‌های گیاهی باشد؛ که این عوامل می‌توانند جذب بیش‌تر عناصر غذایی از جمله آهن توسط گیاه را تحریک کرده و منجر به افزایش میزان کلروفیل برگ گیاهان شود (Hewedy, 1999; Huang et al., 2004; Li et al., 2008; Kumar et al., 2023; Ali et al., 2023; Ali et al., 2024; Muthukumaran, 2026).

اثر تنش رطوبتی و پایداری سامانه در شرایط محدودیت آبی

همچنین نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که اعمال تنش کنترل‌شده رطوبت خاک، هیچ‌گونه اثر سوء معنی‌داری بر ویژگی‌های کلیدی رشد و فیزیولوژیک گیاه شامل وزن خشک، ارتفاع اندام هوایی، مساحت برگ و شاخص سبزیگی (کلروفیل) نداشت. تنها ویژگی متأثر از این شرایط، وزن تر اندام هوایی بود که این امر با اصول فیزیولوژیکی و هیدرولوژیکی کاملاً سازگار است. از آنجا که آلودگی‌های نفتی و کمبود منابع آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک هم‌پوشانی زیادی دارند، این یافته که حداکثر کارایی پالایش و رشد گیاه همواره به حفظ سطوح بالای رطوبت وابسته نیست، از نظر مدیریت بهینه منابع آب در گیاه‌پالایی در مقیاس وسیع، دستاوردی کلیدی محسوب می‌شود. مقاومت مشاهده شده در برابر تنش رطوبتی، حاصل هم‌افزایی چندین فرایند مکمل است؛ به‌طوری که زیست‌توده خشک جلبک کلروپلاست‌ها ضمن تأمین تدریجی و آهسته‌رهش عناصر غذایی، با حفظ رطوبت در ماتریکس خاک، می‌تواند شرایط مناسب‌تری برای تداوم فعالیت‌های زیستی خاک فراهم آورد. همزمان، کنسرسیوم میکروبی به‌ویژه باکتری سودوموناس فلئورسانس، با تحمل بالای خشکی و ترجیح هیدروکربن‌های نفتی به عنوان منبع کربن و انرژی، احتمالاً در تداوم فرایندهای پالایشی در شرایط محدودیت آبی نقش داشته است. از طرفی سیستم الکتروسینتیک نیز با تطبیق سازوکارهای مهاجرت آلاینده (مانند رانش یون)، تحرک آلاینده را در جریان‌های الکترواسمزی پایین حفظ کرده است. مجموع این واکنش‌های انطباقی در حضور کنسرسیوم زیستی، منجر به حفظ یا حتی ارتقای کارایی پالایش در شرایط خشکی شده که این ویژگی، نقشی حیاتی در پایداری و عملیاتی‌سازی این سامانه در مناطق خشک ایفا می‌کند. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که اگرچه آلودگی نفتی به‌طور ذاتی موجب افت شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک می‌شود،

اما به کارگیری سامانه تلفیقی الکتروسینتیک-زیست پالایی، به ویژه در قالب بهینه سازی چندعاملی (RSM) می تواند با کاهش فشار تنش نفتی، بهبود وضعیت ریزوسفر و تقویت فعالیت های متابولیکی گیاه، نه تنها از کاهش رشد جلوگیری کند بلکه موجب افزایش زیتوده گیاهی و ارتقای پایداری فیزیولوژیک شود. این هم افزایی میان میدان الکتریکی، کنسرسيوم زیستی و توان ذاتی گیاه در تحمل و جذب آلاینده ها، چارچوبی کارآمد برای مدیریت پایدار خاک های آلوده به نفت فراهم می آورد (Hol et al., 2013; Chaudhary et al., 2023; Song et al., 2022).

بهینه سازی

بر اساس تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده توسط نرم افزار Design-expert 11، ترکیب بهینه سه عامل جریان الکتریکی، نوع عامل بیولوژیکی و رطوبت خاک در هر یک از سطوح آلودگی نفت خام در خاک برای به دست آوردن بیشینه مقدار وزن تر، وزن خشک، شاخص سبزیگی گیاه، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ گیاه برمودا گراس، به ترتیب برابر با مقادیر ۳ ولت بر سانتی متر، ۳ درصد کنسرسيوم جلبک (کلرلا)- باکتری (سودوموناس فلورسانس) و ۶۰ درصد رطوبت زراعی در دو سطح آلودگی ۱/۵ و ۳ درصد نفت خام و مقادیر ۳ ولت بر سانتی متر، ۳ درصد کنسرسيوم جلبک (کلرلا)- باکتری (سودوموناس فلورسانس) و ۱۰۰ درصد رطوبت زراعی در سطح آلودگی ۴/۵ درصد نفت خام بود. برای تأیید صحت مقادیر پیش بینی شده، آزمایشی در شرایط بهینه پیشنهادی انجام شد. نتایج آزمایش های بهینه سازی و تأیید در جدول ۸ آمده است. این جدول مقادیر بیشینه مقدار وزن تر، وزن خشک، شاخص سبزیگی گیاه، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ گیاه برمودا گراس واقعی و پیش بینی شده در شرایط بهینه را نشان می دهد که از این نتایج می توان میزان خطای قابل قبول (APE) آزمایش را برای پنج ویژگی مورد بررسی در این پژوهش به ترتیب ۲/۱۰، ۰/۷۵، ۱/۷۷، ۲/۴۷ و ۱/۴۴ درصد در آلودگی ۱/۵ درصد و ۲/۲۱، ۲/۸۴، ۰/۴۷، ۳/۰۶ و ۹/۱۵ درصد در آلودگی ۳ درصد و ۳/۳۲، ۱/۶۴، ۰/۹۴، ۳/۲۰ و ۶/۴۷ درصد در آلودگی ۴/۵ درصد برآورد نمود. در نتیجه، این مطالعه نشان می دهد که همه نتایج دارای انحراف کمی بین مقادیر اندازه گیری شده و پیش بینی شده بودند و تفاوت بین مقادیر پیش بینی شده و تجربی بسیار کم و درصد خطا در حد قابل قبول است. بنابراین، مدل RSM می تواند به خوبی مقدار وزن تر، وزن خشک، شاخص سبزیگی گیاه، ارتفاع اندام هوایی و مساحت برگ گیاه برمودا گراس مورد مطالعه را با ترکیب سه عامل جریان الکتریکی، نوع عامل بیولوژیکی و رطوبت خاک بهینه شده در هر یک از سطوح آلودگی نفت خام پیش بینی کند.

جدول ۸- شرایط بهینه برای دستیابی به حداکثر صفات مورد مطالعه، شامل وزن تر، وزن خشک و ارتفاع اندام هوایی چمن برمودا، مساحت برگ و شاخص سبزیگی بر اساس روش سطح پاسخ (RSM) در هر میزان آلودگی خاک

A: آلودگی نفت خام (درصد)		۱/۵	۳	۴/۵	
B: جریان الکتریکی (ولت بر سانتی متر) (در شرایط بهینه)		۳	۳	۳	
C: نوع عامل بیولوژیکی (در شرایط بهینه*)		۲	۲	۲	
D: رطوبت خاک (درصد رطوبت زراعی) (در شرایط بهینه)		۶۰	۶۰	۱۰۰	
بیشینه واقعی	بیشینه پیش بینی شده	بیشینه واقعی	بیشینه پیش بینی شده	بیشینه واقعی	بیشینه پیش بینی شده
وزن تر (گرم در گلدان)	۵۴/۰۵۶	۵۳/۴۱۴	۳۷/۰۱۴	۳۶/۱۹۷	۲۴/۷۰۱
وزن خشک (گرم در گلدان)	۲۰/۵۵۱	۲۰/۳۹۷	۱۵/۷۳۱	۱۵/۲۸۴	۱۰/۱۷۱
شاخص سبزیگی گیاه	۷۴/۳۹۴	۷۳/۰۷۵	۶۲/۷۸۹	۶۳/۰۸۳	۵۳/۰۹۲
ارتفاع اندام هوایی (سانتی متر)	۴۶/۵۳۳	۴۷/۶۸۲	۲۷/۷۷۵	۲۸/۶۲۵	۲۴/۵۰۰
مساحت برگ (سانتی متر مربع در گلدان)	۴/۵۲۵	۴/۴۶۰	۲/۲۸۵	۲/۴۹۴	۲/۱۰۳

* عامل بیولوژیکی ۲ نمایانگر ۳ درصد کنسرسيوم جلبک (کلرلا)- باکتری (سودوموناس فلورسانس) است.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که به کارگیری سامانه یکپارچه الکتروسینتیک-زیست پالایی، رویکردی کارآمد و پایدار برای بهبود رشد و



سلامت فیزیولوژیک گیاه در خاک‌های آلوده به نفت محسوب می‌شود. هم‌افزایی میان اعمال جریان الکتریکی و استفاده از تیمار زیستی، به‌ویژه در قالب کنسرسیون جلبک-باکتری، توانست اثرات بازدارنده آلودگی نفتی را به‌طور مؤثری تعدیل کرده و شرایط زیستی مطلوب‌تری را برای رشد گیاه فراهم آورد. این امر بیانگر آن است که تلفیق فرآیندهای فیزیکی و زیستی می‌تواند محدودیت‌های هر یک از این روش‌ها را به‌صورت مستقل کاهش دهد. بهبود هم‌زمان شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه نشان می‌دهد که سامانه پیشنهادی نه‌تنها موجب افزایش زیست‌توده و پایداری گیاه در شرایط تنش‌زا شده، بلکه بستر مناسبی برای ارتقای کارایی فرآیند گیاه‌پالایی فراهم کرده است. پاسخ مناسب گیاه به این سامانه بیانگر افزایش توان زیستی آن در مواجهه با آلودگی نفتی و سازگاری بهتر با شرایط نامطلوب خاک می‌باشد که از منظر مدیریت خاک‌های آلوده، حائز اهمیت ویژه است. این پژوهش نشان داد که تنش رطوبتی، لزوماً به افت معنی‌دار عملکرد گیاه و اختلال جدی در فرآیند پالایش منجر نمی‌شود. در واقع، سامانه با اتکا به هم‌افزایی زیست‌توده و مکانیزم‌های سازشی، کارایی را در شرایط کم آبی حفظ کرده و پایداری عملیاتی در مناطق خشک و نیمه خشک را تقویت می‌کند. مدل‌سازی و بهینه‌سازی چندفازی با رویکرد RSM نیز امکان شناسایی ترکیب‌های بهینه عوامل مؤثر را فراهم نموده و نشان داد که این ابزار می‌تواند به‌عنوان روشی دقیق و قابل اتکا در طراحی و پیش‌بینی عملکرد سامانه‌های پالایش خاک مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از این رویکرد، ضمن کاهش هزینه‌های آزمایشگاهی، مسیر توسعه سامانه‌های تلفیقی کارآمدتر را هموار می‌سازد. بر اساس یافته‌های این مطالعه، پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده، پایداری بلندمدت سامانه یکپارچه در مقیاس‌های نیمه‌میدانی و میدانی مورد بررسی قرار گیرد و همچنین، بررسی کارایی این سامانه در مواجهه با انواع مختلف آلاینده‌های آلی و استفاده از گونه‌های گیاهی متنوع می‌تواند به تعمیم‌پذیری و کاربرد گسترده‌تر این رویکرد در مدیریت پایدار خاک‌های آلوده کمک نماید. در مجموع، نتایج این پژوهش بر ظرفیت بالای سامانه الکتروسینتیک-زیست‌پالایی به‌عنوان راهکاری نوین، سازگار با محیط‌زیست و قابل توسعه برای پالایش خاک‌های آلوده به نفت تأکید دارد و می‌تواند مبنایی علمی برای طراحی راهبردهای عملی در حفاظت و احیای منابع خاک فراهم آورد.

ملاحظات اخلاقی

حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی و معنوی دانشگاه شیراز و شرکت مناطق نفت خیز جنوب انجام شد.

حمایت مالی از این پژوهش از طرف دانشگاه شیراز و شرکت مناطق نفت خیز جنوب (۵۳-۱۸۰-۰۴/۰۰۰۵) در قالب پژوهانه پایان‌نامه دانشجویی نویسنده اول و گرانت پژوهشی نویسنده دوم انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

جمع‌آوری داده‌ها: راضیه دریایی، سید علی‌اکبر موسوی، رضا قاسمی، مسعود ریاضی؛ تهیه گزارش پژوهش: راضیه دریایی، سید علی‌اکبر موسوی، رضا قاسمی، مسعود ریاضی، امین مجیری؛ تحلیل داده‌ها: راضیه دریایی، سید علی‌اکبر موسوی، رضا قاسمی، مسعود ریاضی، امین مجیری

اعلامیه هوش مصنوعی مولد و فناوری‌های مبتنی بر هوش مصنوعی در فرایند نگارش

در فرایند آماده‌سازی این اثر، نویسندگان از Grammarly و ChatGPT به منظور ویرایش نگارشی متن، بهبود نگارش چکیده انگلیسی و قالب‌بندی منابع استفاده کردند. پس از استفاده از این ابزار/خدمت، نویسندگان مطالب را در صورت نیاز بررسی و ویرایش کرده و مسئولیت کامل محتوای نشریه را بر عهده می‌گیرند.

بیانیه دسترسی به داده‌ها

همه اطلاعات و نتایج در متن مقاله ارائه شده است.

سپاسگزاری

از دانشگاه شیراز و شرکت مناطق نفت خیز جنوب به خاطر حمایت مالی / حمایت معنوی / همکاری در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنهاست.

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

منابع

- حسینی، شیوا، آزادی، داوود، و آبسالان، عبدالرحیم. (۱۴۰۲). جداسازی و شناسایی مولکولی نوکاردیاهای مولد تجزیه هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای و فلز از اکوسیستم‌های ایران. *سلولی و تحقیقات مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران)*، ۳۶ (۲)، ۱۰۳-۱۱۵.
- سعادت، نسرين، داوتگر، ناصر، رودیما، محسن، مصدقی، محمدرضا، ر.، و بستانی، عبدالامير. (۱۳۹۴). ارزیابی اثرات آلودگی نفتی بر شدت آب‌گریزی خاک در بختیارداشت اصفهان. *پژوهش خاک (علوم خاک و آب)*، ۲۹ (۳)، ۳۵۹-۳۶۹.
- عرفانمنش، مجید. و افیونی، مجید. (۱۳۸۶). آلودگی آب، خاک و محیط زیست. چاپ ششم، فصل اول، انتشارات جهاد دانشگاهی صنعتی اصفهان، اصفهان.
- عسکری مهرآبادی، مهری، نوری، میترا، امینی، فریبا، و بیگی، فاطمه. (۱۳۹۰). ارزیابی جوانه زنی، مقدار کلروفیل و رشد گیاه اقاچیا (*Rubinia pseudoacacia L.*) در پاسخ به آلودگی نفت خام. *مجله زیست‌شناسی گیاهی*، ۳ (۷)، ۴۱-۵۴.
- کمری، الهیار، و فرشادفر، محسن. (۱۳۹۲). فناوری نوین فیتورمدیاسیون برای ایجاد محیط زیست پایدار. *مجله ایمنی زیستی*، ۵ (۲)، ۱۰۷-۱۲۱.
- کوهکن، هادی، گلچین، احمد، مرتضوی، محمدصدیق. ص.، شهریار، فاطمه. و همتی، رقیه. (۱۳۹۹). کارایی هم‌زمان گیاه پالایی و زیست پالایی در حذف نفت خام از خاک. *نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک*، ۲۷ (۲)، ۲۵-۴۵.
- لرستانی، بهاره، کلاهچی، نسرين، قاسمی، مهشید، و چراغی، مهرداد. (۱۳۹۱). اثر غلظت‌های مختلف نفت بر پارامترهای رشد *Faba vulgaris*. اولین همایش ملی تنش‌های گیاهی. دانشگاه اصفهان، صفحات ۱ تا ۴.

REFERENCES

- Adam, G., & Duncan, H. J. (2002). Influence of diesel fuel on seed germination. *Environmental Pollution*, 120(2), 363-370. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00119-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00119-7)
- Agbogidi, O. M., & Eshegbeyi, O. F. (2006). Performance of *Dacryodes edulis* (Don. G. Lam H. J.) seeds and seedlings in a crude oil contaminated soil. *Journal of Sustainable Forestry*, 22(3-4), 1-13.
- Agbogidi, O. M., Eruotor, P. G., & Akparobi, S. O. (2007). Effects of crude oil levels on the growth of maize (*Zea mays* L.). *American Journal of Food Technology*, 2(6), 529-535.
- Akpobaro, A., & Adeyemi, O. (2026). Morphophysiological and redox modulation of *Abelmoschus esculentus* under graded crude oil soil contamination. *IKR Journal of Agriculture and Biosciences*, 2(1), 59-66.
- Alanazi, F., Almugbel, R., Maher, H. M., Alodaib, F. M., & Alzoman, N. Z. (2021). Determination of tetracycline, oxytetracycline, and chlortetracycline residues in seafood products of Saudi Arabia using high-performance liquid chromatography-photo diode array detection. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(6), 566-575. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2021.04.017>
- Alavi, E., Tajadod, G., Jafari Marandi, S., & Arbabian, S. (2023). Vicia faba seed: a bioindicator of phytotoxicity, genotoxicity, and cytotoxicity of light crude oil. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(8), 21043-21051.
- Alharbi, B. H., Pasha, M. J., Alhuthudi, A. H., & Alduwais, A. K. (2018). Assessment of soil contamination caused by underground fuel leakage from selected gas stations in Riyadh, Saudi Arabia. *Soil and Sediment Contamination*, 27, 674-691. <https://doi.org/10.1080/15320383.2018.1503228>
- Ali, M. H., Khan, M. I., Naveed, M., & Tanvir, M. A. (2023). Microbe-assisted rhizoremediation of hydrocarbons and growth promotion of chickpea plants in petroleum hydrocarbons-contaminated soil. *Sustainability*, 15(7), 6081.
- Ali, M. H., Khan, M. I., Naveed, M., & Tanvir, M. A. (2024). Microbe-assisted rhizodegradation of hydrocarbons and growth enhancement of wheat plants in hydrocarbons contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 21(3), 3169-3184.
- Almeida, Â., Cotas, J., Pereira, L., & Carvalho, P. (2023). Potential role of *Spirogyra* sp. and *Chlorella* sp. in bioremediation of mine drainage: A review. *Phycology*, 3(1), 186-201.
- Alves, A. R., Yin, Q., Oliveira, R. S., Silva, E. F., & Novo, L. A. (2022). Plant growth-promoting bacteria in phytoremediation of metal-polluted soils: Current knowledge and future directions. *Science of the Total Environment*, 812, 151812.



- Environment*, 838, Article 156435. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156435>
- Anigboro, A. A., & Tonukari, N. J. (2008). Effect of crude oil on invertase and amylase activities in cassava leaf extract and germinating cowpea seedlings. *Asian Journal of Biological Sciences*, 1, 56–60.
- Askari Mehrabadi, M., Noori, M., Amini, F., & Beigi, F. (2011). Evaluation of germination, chlorophyll content, and growth of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) in response to crude oil pollution. *Iranian Journal of Plant Biology*, 3(7), 41–54. (in Persian)
- Babich, O., Sukhikh, S., Larina, V., Kalashnikova, O., Kashirskikh, E., Prosekov, A., ... & Dolganyuk, V. (2022). Algae: Study of edible and biologically active fractions, their properties and applications. *Plants*, 11(6), Article 780.
- Baker, J. M. (1970). The effects of oils on plants. *Environmental Pollution*, 1, 27–44. [https://doi.org/10.1016/0013-9327\(70\)90004-2](https://doi.org/10.1016/0013-9327(70)90004-2)
- Bakina, L. G., Polyak, Y. M., Gerasimov, A. O., Mayachkina, N. V., Chugunova, M. V., Khomyakov, Y. V., & Vertebny, V. A. (2022). Mutual effects of crude oil and plants in contaminated soil: a field study. *Environmental Geochemistry and Health*, 44(1), 69–82.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escalera, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977.
- Chaineau, C. H., Morel, J. L., & Oudot, J. (1997). Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *Journal of Environmental Quality*, 26, 1478–1483.
- Chattopadhyay, P., Karthick, A., & Roy, B. (2019). A review on the application of chemical surfactant and surfactant foam for remediation of petroleum oil contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 243, 187–205.
- Chaudhary, P., Xu, M., Ahamad, L., Chaudhary, A., Kumar, G., Adeleke, B. S., ... & Abou Fayssal, S. (2023). Application of synthetic consortia for improvement of soil fertility, pollution remediation, and agricultural productivity: A review. *Agronomy*, 13(3), Article 643.
- Cherian, S., & Oliveira, M. M. (2005). Transgenic plants in phytoremediation: Recent advances and new possibilities. *Environmental Science & Technology*, 39(24), 9377–9390.
- Clementina, O. A., Olusola, J. O., & Luqman, S. K. (2008). Effect of spent engine oil on the growth parameters and chlorophyll content of *Corchorus olitorius* L. *Environment Systems and Decisions*, 28(4), 446–450. <https://doi.org/10.1007/s10669-008-9165-5>
- Daryaei, R., Moosavi, A. A., Ghasemi, R., & Riaz, M. (2024). Review of the effects of oil pollutants on physicochemical and biological soil properties. In H. Sarma & S. Joshi (Eds.), *Biotechnology of emerging microbes* (pp. 263–297). Elsevier.
- da Silva Correa, H., Blum, C. T., Galvão, F., & Maranhão, L. T. (2022). Effects of oil contamination on plant growth and development: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(29), 43501–43515.
- Duan, Q., Han, G., Cui, B., & Rennenberg, H. (2023). The effects of petroleum contaminated soils on the growth, gas exchange and antioxidative level of sea-buckthorn. *Plant and Soil*, 486(1), 535–550.
- Erfanmanesh, M., & Afyuni, M. (2007). [Water, Soil and Environmental Pollution] (6th Ed.). Isfahan University of Technology Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Press. (in Persian)
- Etesami, H., & Maheshwari, D. K. (2018). Use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth-promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 225–246.
- Etim, E. E. (2012). Phytoremediation and its mechanisms: A review. *International Journal of Environmental and Bioenergy*, 2(3), 120–136.
- Gavrilescu, M. (2022). Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 74, 21–31.
- Gee, G. W., & Bauder, J. W. (1986). Particle-size analysis. In A. Klute (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 1—Physical and mineralogical methods* (2nd ed., pp. 383–411). American Society of Agronomy.
- Geraei, H., & Shokrkari, H. (2025). Investigation of the biological removal of nickel and copper ions from aqueous solutions using mixed microalgae. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 19(1), 18–33.
- Gharib, F. A. E. L., Osama, K., Sattar, A. M. A. E., & Ahmed, E. Z. (2024). Impact of *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis salina*, and *Arthrospira platensis* as bio-stimulants on common bean plant growth, yield, and antioxidant capacity. *Scientific Reports*, 14(1), 1398.
- Ghoneim, S. S., Dessouky, S. S., Boubakeur, A., Elfaraskoury, A. A., Abou Sharaf, A. B., Mahmoud, K., ... & Darwish, M. M. (2021). Accurate insulating oil breakdown voltage model associated with different

- barrier effects. *Processes*, 9(4), Article 657.
- Gidudu, B., & Chirwa, E. M. (2022). The role of pH, electrodes, surfactants, and electrolytes in electrokinetic remediation of contaminated soil. *Molecules*, 27(21), Article 7381.
- Gidudu, B., & Chirwa, E. M. N. (2020). Biosurfactants as demulsification enhancers in bio-electrokinetic remediation of petroleum contaminated soil. *Process Safety and Environmental Protection*, 143, 332–339.
- Gnanasundar, V. M., & Raj, R. A. (2021). Remediation of inorganic contaminants in soil using electrokinetics, phytoremediation techniques. *Materials Today: Proceedings*, 45, 950–956. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.038>
- Gods' gift, O. E., & Fagade, O. E. (2016). Microalgal-bacterial consortium in polyaromatic hydrocarbon degradation of petroleum-based effluent. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 7(4), Article 1000365.
- Hamid, F. S., Ossai, I. C., Ahmed, A., & Hassan, A. (2020). Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. *Environmental Technology & Innovation*, 17, Article 100526.
- Helmke, P. A., & Sparks, D. L. (1996). Lithium, sodium, potassium, rubidium, and cesium. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 3—Chemical methods* (pp. 551–574). Soil Science Society of America.
- Hewedy, A. M. (1999). Influence of single and multi-bacterial fertilizer on the growth and fruit yield of tomato. *Egyptian Journal of Applied Science*, 14(7), 508–523.
- Hol, W. G., Bezemer, T. M., & Biere, A. (2013). Getting the ecology into interactions between plants and the plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 81.
- Hosseini, S., Azadi, D., & Absalan, A. (2023). Screening and molecular identification of nocardia with ability to biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and phenol from Iranian ecosystems. *Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 36(2), 103-115. (in Persian)
- Huang, H., Tang, J., Niu, Z., & Giesy, J. P. (2019). Interactions between electrokinetics and rhizoremediation on the remediation of crude oil-contaminated soil. *Chemosphere*, 229, 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.150>
- Huang, X. D., El-Alawi, Y., Penrose, D. R., Glick, B., & Greenberg, B. (2004). Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 130, 453–463.
- Huang, X. D., El-Alawi, Y., Penrose, D. M., Glick, B. R., & Greenberg, B. M. (2004). A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution*, 130(3), 465–476.
- Hu, J., Chen, J., Wang, W., & Zhu, L. (2023). Mechanism of growth inhibition mediated by disorder of chlorophyll metabolism in rice (*Oryza sativa*) under the stress of three polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*, 329, 138554.
- Hussein, Z. S., Hamido, N., Hegazy, A. K., El-Dessouky, M. A., Mohamed, N. H., & Safwat, G. (2022). Phytoremediation of crude petroleum oil pollution: a review. *Egyptian Journal of Botany*, 62(3), 611–640.
- Iqbal, S., Ummara, U., Noreen, S., Akhter, M. S., Jaleel, F., Jabeen, S., ... & Aqeel, M. (2024). Enhancing systematic tolerance in Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) through amplified alkB gene expression and bacterial-driven hydrocarbon degradation. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(13), 19871–19885.
- Jeyasundar, P. G. S. A., Ali, A., Azeem, M., Li, Y., Guo, D., Sikdar, A., ... & Zhang, Z. (2021). Green remediation of toxic metals contaminated mining soil using bacterial consortium and Brassica juncea. *Environmental Pollution*, 277, Article 116789. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116789>
- Kamari, E., & Farshadfar, M. (2014). Novel phytoremediation technology for achieving a sustainable environment. *Journal of Biosafety*, 5(2), 107–121. (in Persian)
- Keshavarz, S., Ghasemi-Fasaei, R., Ronaghi, A., & Mousavi, A. A. (2021). Innovative assisted phytoremediation of multi-elements contaminated soil by ryegrass: An electro-biochemical approach. *Journal of Soils and Sediments*, 21(7), 2604–2618.
- Khan, S., Masoodi, T. H., Pala, N. A., Murtaza, S., Mugloo, J. A., Sofi, P. A., ... & Kumar, A. (2023). Phytoremediation prospects for restoration of contamination in the natural ecosystems. *Water*, 15(8), 1498.
- Kouhkan, H., Golchin, A., Mortazavi, M. S., Shahriari, F., & Hemati, R. (2021). Simultaneous efficiency of phytoremediation and bioremediation in crude oil removal from soil. *Journal of Water and Soil Conservation Research*, 27(2), 25–45. (in Persian)



- Kumar, A., Das, A., Singh, D., Das, M. K., Srivastava, G. P., Singh, J. P., ... & Chakdar, H. (2023). Soil health restoration in degraded lands: A microbiological perspective. *Land Degradation & Development*, 34(17), 5155-5170.
- Lal, M. A., & Bhatla, S. C. (2023). Metabolism of storage carbohydrates. In *Plant physiology, development and metabolism* (pp. 231-259). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Li, J. H., Gao, Y., Wu, S. C., Cheung, K. C., Wang, X. R., & Wong, M. H. (2008). Physiological and biochemical responses of rice (*Oryza sativa* L.) to phenanthrene and pyrene. *International Journal of Phytoremediation*, 10(2), 106-118.
- Li, M., Huang, Y., Li, K., Yuan, X., Liu, H., Li, M., ... & Xi, Y. (2023). Enhancement of electrokinetic-phytoremediation by *Ophiopogon japonicus*: stimulation of electrokinetic on root system and improvement of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(43), 97591-97600. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-29342-7>
- Liu, L., Luo, D., Lu, Y., Huang, X., Liu, Y., Wei, L., ... & Liu, G. (2022). Risk assessment of groundwater pollution during GLDA-assisted phytoremediation of Cd- and Pb-contaminated soil. *Ecological Indicators*, 139, Article 108913.
- Loeppert, R. H., & Suarez, D. L. (1996). Carbonate and gypsum. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 3—Chemical methods* (pp. 437-474). Soil Science Society of America.
- Lorestani, B., Kolahchi, N., Ghasemi, M., & Cheraghi, M. (2013). Effect of different oil concentrations on the growth parameters of *Faba vulgaris*. In *Proceedings of the First National Conference on Plant Stresses* (pp. 1-4). University of Isfahan. (in Persian)
- Maila, M. P., & Cloete, T. E. (2002). Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50(2), 107-113.
- Malallah, G., Afzal, M., Kurian, M., Gulshan, S., & Dhami, M. S. I. (1998). Impact of oil pollution on some desert plants. *Environment International*, 24(8), 919-924.
- Mandari, T., & Lin, J. (2007). Isolation and characterization of engine oil degrading indigenous microorganisms in wazulu-Natal, South Africa. *African Journal of Biotechnology*, 6(1), 23-27.
- Manzar, M. S., Khan, G., dos Santos Lins, P. V., Zubair, M., Khan, S. U., Selvasembian, R., ... & Kayed, T. S. (2021). RSM-CCD optimization approach for the adsorptive removal of Eriochrome Black T from aqueous system using steel slag-based adsorbent: Characterization, isotherm, kinetic modeling, and thermodynamic analysis. *Journal of Molecular Liquids*, 339, Article 116714. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116714>
- Medina, V. F., Maestri, E., Marmiroli, M., Dietz, A. C., & McCutcheon, S. C. (2003). Plant tolerances to contaminants. In S. C. McCutcheon & J. L. Schnoor (Eds.), *Phytoremediation: Transformation and control of contaminants* (pp. 189-232). Wiley.
- Meudec, A., Poupart, N., Dussauze, J., & Deslandes, E. (2007). Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in *Salicornia fragilis*. *Science of the Total Environment*, 381(1-3), 146-156.
- Mohammadi, F., Samaei, M. R., Azhdarpoor, A., Teiri, H., Badeenezhad, A., & Rostami, S. (2019). Modelling and optimizing pyrene removal from the soil by phytoremediation using response surface methodology, artificial neural networks, and genetic algorithms. *Chemosphere*, 237, Article 124486. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124486>
- Mohrazi, A., Ghasemi-Fasaei, R., Mojiri, A., & Shirazi, S. S. (2023). Investigating an electro-bio-chemical phytoremediation of multi-metal polluted soil by maize and sunflower using RSM-based optimization methodology. *Environmental and Experimental Botany*, 211, Article 105352.
- Muthukumar, M. (2026). Indigenous microalgal biodiversity for efficient phytoremediation and biomass valorization of oil-drilling effluent. *Journal of Water Process Engineering*, 88, 110190.
- Nemati, A., Golchin, A., & Ghavidel, A. (2019). Evaluating the effects of co-using phytoremediation and bioremediation in a crude oil contaminated soil. *Water and Soil*, 33(4), 579-590. <https://doi.org/10.22067/jsw.v0i0.76812>
- Ogundele, O. D., Ogundele, D. T., Popoola, O. J., Adekun, A. A., & Olagunju, V. A. (2025). Phytoremediation in wetlands. In *Wetland Ecosystems: Conservation Strategies, Policy Management and Applications* (pp. 199-237). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Olguín, E. J. (2003). Phytoremediation: Key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances*, 22(1-2), 81-91.
- Omosun, G., Markson, A. A., & 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.
- Otugboyega, J. O., & Adeyemi, O. (2025). Phytotoxic effects of crude oil contamination on maize growth parameters. *IKR Journal of Agriculture and Biosciences*, 1(4), 174-188.
- Palmroth, M. R. T., Pichtel, J., & Puhakka, J. A. (2002). Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. *Bioresource Technology*, 84, 221-228.
- Peretiemo-Clarke, B. O., & Achuba, F. I. (2007). Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. *Journal of Plant Pathology*, 6(2), 179–182.
- Pinna, M. V., Diquattro, S., Garau, M., Grottola, C. M., Giudicianni, P., Roggero, P. P., ... & Garau, G. (2024). Combining biochar and grass-legume mixture to improve the phytoremediation of soils contaminated with potentially toxic elements (PTEs). *Heliyon*, 10(5).
- Polyak, Y. M., Bakina, L. G., Mayachkina, N. V., Chugunova, M. V., Bityutskii, N. P., Yakkonen, K. L., & Shavarda, A. L. (2024). Long-term effects of oil contamination on soil quality and metabolic function. *Environmental Geochemistry and Health*, 46(1), 13.
- Priya, A. K., Muruganandam, M., Ali, S. S., & Kornaros, M. (2023). Clean-up of heavy metals from contaminated soil by phytoremediation: A multidisciplinary and eco-friendly approach. *Toxics*, 11(5), 422.
- Rath, B. (2012). Microalgal bioremediation: Current practices and perspectives. *Journal of Biochemical Technology*, 3(3), 299–304.
- Rathi, M., & Yogalakshmi, K. N. (2021). *Brevundimonas diminuta* MYS6 associated *Helianthus annuus* L. for enhanced copper phytoremediation. *Chemosphere*, 263, Article 128195.
- Razmjoo, K., & Adavi, Z. (2012). Assessment of bermudagrass cultivars for phytoremediation of petroleum contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*, 14(1), 14–23.
- Rhoades, J. D. (1996). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved salts. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 3—Chemical methods* (pp. 417–436). Soil Science Society of America.
- Richard, S. L. A. (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils* (U.S. Salinity Laboratory Staff, Agriculture Handbook No. 60). U.S. Government Printing Office.
- Richards, L. A., & Fireman, M. (1943). Pressure-plate apparatus for measuring moisture sorption and transmission by soils. *Soil Science*, 56(6), 395–404.
- Rocha, I. M. V., Silva, K. N. O., Silva, D. R., Martínez-Huitle, C. A., & Santos, E. V. (2019). Coupling electrokinetic remediation with phytoremediation for depolluting soil with petroleum and the use of electrochemical technologies for treating the effluent generated. *Separation and Purification Technology*, 208, 194–200.
- Rosso, P. H., Pushnik, J. C., Lay, M., & Ustin, S. L. (2005). Reflectance properties and physiological responses of *Salicornia virginica* to heavy metal and petroleum contamination. *Environmental Pollution*, 137(2), 241–252.
- Ruiz-Marin, A., Canedo-Lopez, Y., Campos-Garcia, S. D. C., Sabido-Perez, M. Y., & Zavala-Loria, J. D. C. (2013). Biodegradation of wastewater pollutants by activated sludge coimmobilized with *Scenedesmus obliquus*. *Agrociencia*, 47(5), 429–441.
- Saadati, N., Davatgar, N., Roodpeyma, M., Mosaddeghi, M. R., & Bostani, A. (2015). Evaluation of petroleum contamination effects on soil water repellency intensity in Bakhtiardasht of Isfahan. *Iranian Journal of Soil Research*, 29(3), 359-369. (in Persian)
- Saini, A., Bekele, D. N., Chadalavada, S., Fang, C., & Naidu, R. (2021). Electrokinetic remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil (I). *Environmental Technology & Innovation*, 23, Article 101585.
- Sakhaei, Z., Daryaei, R., Moosavi, A. A., Carrasco-Marin, F., Betancur, S., Bailón-García, E., Perez-Cadenas, A. F., & Riazi, M. (2024). Chemical-assisted biological methods for in situ remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils. In H. Sarma & S. Joshi (Eds.), *Biotechnology of emerging microbes* (pp. 217–261). Elsevier.
- Sharma, P. K., & Kumar, S. (2023). Soil air and plant growth. In *Soil Physical Environment and Plant Growth: Evaluation and Management* (pp. 155-174). Cham: Springer International Publishing.
- Shen, X., Dai, M., Yang, J., Sun, L., Tan, X., Peng, C., ... & Naz, I. (2021). A critical review on the phytoremediation of heavy metals from the environment: Performance and challenges. *Chemosphere*, 291(3), Article 132979.
- Sivasakthi, S., Usharani, G., & Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) — *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural*



- Research, 9(16), 1265–1277.
- Smit, B., Stachowiak, M., & Van Volkenburgh, E. (1989). Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic root stress. *Journal of Experimental Botany*, 40(1), 89–94.
- Song, X., Li, C., & Chen, W. (2022). Phytoremediation potential of Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) Pers.) in soils co-contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons and cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 234, Article 113389.
- Subashchandrabose, S. R., Venkateswarlu, K., Venkidusamy, K., Palanisami, T., Naidu, R., & Megharaj, M. (2019). Bioremediation of soil long-term contaminated with PAHs by algal–bacterial synergy of *Chlorella* sp. MM3 and *Rhodococcus wratislaviensis* strain 9 in slurry phase. *Science of the Total Environment*, 659, 724–731.
- Sule, B. T., Olawepo, K. G., & Najeemdeen, B. A. (2025). Impact of kolanut biochar on corchorus olitorius growth and nutritional value in cadmium-polluted soil. *African Journal of Geographical Sciences*, 7(1), 15–26.
- Teiri, H., Hajizadeh, Y., Samaei, M. R., Pourzamani, H., & Mohammadi, F. (2020). Modelling the phytoremediation of formaldehyde from indoor air by *Chamaedorea elegans* using artificial intelligence, genetic algorithm, and response surface methodology. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), Article 104225.
- Telo da Gama, J. (2023). The role of soils in sustainability, climate change, and ecosystem services: Challenges and opportunities. *Ecologies*, 4(3), 552–567.
- Thomas, G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis: Part 3—Chemical methods* (pp. 475–490). Soil Science Society of America.
- Tulkova, E. G., Savchenko, G. E., & Kabashnikova, L. F. (2022). Degradation of chlorophyll in the leaves of Reed Fescue (*Festuca arundinacea*) under the action of volatile organic compounds and benzo (a) pyrene. *Biology Bulletin*, 49(4), 282–291.
- Ugbeni, O. C., Ebite, L. A., & Ikhelegbe-Ojo, D. (2022). Antioxidant enzyme activities of the leaves of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) planted on crude oil-contaminated soil. *African Scientist*, 23(4), 240.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37, 29–38.
- Wang, J., Liu, X., Zhang, X., Liang, X., & Zhang, W. (2011). Growth response and phytoremediation ability of reed for diesel contaminant. *Laboratory of Environmental Remediation, College of Environmental and Chemical Engineering, Shanghai University, China*, 8, 68–74.
- Wang, Y., Li, Z., Wu, J., Liu, H., Sun, X., Liu, L., & Du, S. (2022). Abscissic acid-catabolizing bacteria: A useful tool for enhancing phytoremediation. *Science of the Total Environment*, 812, Article 151474.
- Wang, Z., Gao, N., Li, Y., Song, C., Kang, E., Wang, S., ... & Shang, Z. (2025). A soil aeration system improved the growth of tomato plants and inhibited the occurrence of Fusarium root rot. *Scientia Horticulturae*, 349, 114235.
- Wyszkowski, M., Wyszkowska, J., Kordala, N., & Borowik, A. (2022). Effects of coal and sewage sludge ashes on macronutrient content in maize (*Zea mays* L.) grown on soil contaminated with Eco-Diesel oil. *Materials*, 15(2), 525.
- Yan, H., Zhang, T., Li, Y., Liang, X., He, Y., Zhan, F., ... & Li, Y. (2026). Intercropping *Pennisetum giganteum* and *Medicago sativa* for iron-manganese mitigation and control in coal gangue: root system dynamics and phytoremediation potential. *Plant and Soil*, 521(1), 619–637.
- Zeb, B. S., Hayat, M. T., Zeb, T., Khan, F. Y., Abbasi, H. Z., Nawaz, I., & Ebadi, A. (2022). Uptake of organic pollutants and the effects on plants. In *Sustainable plant nutrition under contaminated environments* (pp. 209–234). Cham: Springer International Publishing.
- Zeng, G., Tang, L., Ren, X., Wang, J., Wan, J., Wang, J., Deng, Y., Liu, Y., & Peng, B. (2018). The potential impact on the biodegradation of organic pollutants from composting technology for soil remediation. *Waste Management*, 72, 138–149.
- Zhang, X., Chen, J., Wang, W., & Zhu, L. (2024). Photosynthetic mechanisms of carbon fixation reduction in rice by cadmium and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Pollution*, 344, 123436.