

## بررسی برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیمی گیاه کنوکارپوس (*Conocarpus erectus* L.) ناشی از تیمارهای پساب نفتی و اکسید کلسیم

ابراهیم رضازاده کته سری<sup>۱\*</sup>، رضا فتوحی قزوینی<sup>۲</sup>، وهب جعفریان<sup>۳</sup> و لیلا عبدلی<sup>۴</sup>

\* نویسنده مسوول: کارشناس ارشد گروه باغبانی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، (e\_rezazadeh55@yahoo.com)

۲- استاد گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

۳- استادیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه زنجان

۴- مربی گروه شیلات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۷

### چکیده

شناسایی و معرفی گیاهانی که در خاک‌های آلوده به مواد نفتی به رشد خود ادامه دهند و یا در کاهش آلودگی‌ها موثر باشند، بسیار مهم است. با هدف گیاه‌پالایی و تعیین سطح تحمل گیاه کنوکارپوس (*Conocarpus erectus* L.) به پساب‌های نفتی و تأثیر اکسید کلسیم بر افزایش سطح مقاومت گیاه، این آزمایش در سال ۱۳۸۸ در مزرعه آموزشی و پژوهشی گروه باغبانی دانشگاه هرمزگان انجام شد. در این مطالعه اثر پساب نفتی با پنج سطح (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم خاک) و اکسید کلسیم با پنج سطح (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) بر دانه‌های ۴ برگی گیاه کنوکارپوس بررسی گردید. افزایش غلظت پساب نفتی باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه به ترتیب ۶۷ درصد و ۶۶ درصد نسبت به شاهد گردید. همچنین افزایش پساب نفتی تا سطح ۲۰ میلی‌لیتر باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و میزان کل پروتئین محلول به ترتیب ۵۰/۶ درصد و ۶۲/۱ درصد نسبت به شاهد شد. افزایش پساب نفتی تا سطح ۲۰ میلی‌لیتر باعث افزایش معنی‌دار میزان نشت یونی و میزان پراکسیداسیون لیپید به ترتیب ۵۱/۸ درصد و ۴۲/۸ درصد در ۲۰ میلی‌لیتر نسبت به شاهد نشان داد. از طرفی مصرف اکسید کلسیم به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش خسارت پساب‌های نفتی و بهبود مؤلفه‌های رشدی مانند وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه شد. تیمار اکسید کلسیم باعث کاهش نشت یونی، کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و میزان پروتئین کل محلول شد. در نتیجه به نظر می‌رسد به دلیل بهبود مؤلفه‌های رشدی و فیزیولوژیکی در نتیجه مصرف اکسید کلسیم در گیاه کنوکارپوس *Conocarpus erectus*، استفاده از این گیاه برای مطالعات بعدی گیاه‌پالایی می‌تواند مفید واقع گردد. بنابراین با توجه به مقاومت نسبی گیاه کنوکارپوس به تنش پساب‌های نفتی و اثر مطلوب تیمار اکسید کلسیم، شاید بتوان این گیاه را با ویژگی گیاه‌پالایی معرفی کرد.

**کلیدواژه‌ها:** آلودگی نفتی، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداسیون چربی‌ها، کنوکارپوس، گیاه‌پالایی

### مقدمه

و زارع مایوان<sup>۱</sup>، ۱۹۹۸). در جنوب ایران، آلوده شدن خاک به نفت خام به هنگام استخراج، انتقال و پالایش آن رخ می‌دهد. هیدروکربن‌های نفتی از مهمترین آلاینده‌های آلی محیط زیست هستند که بدلیل سمی

آلودگی‌های زیست محیطی در سال‌های اخیر بعنوان عامل تهدید کننده حیات گیاهی و جانوری مطرح گردیده‌اند. در بین انواع آلاینده‌ها، آلودگی نفتی رخدادی معمول در کشورهای نفت خیز است (اسماعیلی

داده می شوند (هاریس و همکاران<sup>۶</sup>، ۱۹۹۶). بسالت پور و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که وجود هیدروکربن-های نفتی در خاک بر جوانه زنی بذر آگروپایرون (*gropyron gaertn*) بی اثر بود، اما موجب تاخیر در شروع جوانه زنی بذر کلزا (*Brassica napus*) و فسکیو (*Festuca arundinacea*) گردید. بنابراین آگروپایرون (*Agropyron gaertn*) و فسکیو (*Festuca arundinacea*) را برای مطالعات نهایی گیاه پالایی پیشنهاد نمودند. هم چنین پیشنهاد شده است استفاده از گیاهانی مانند مرغ (*Cynodon dactylon*) و نخل مرداب (*Cyperus alternifolius*) برای حذف مواد آلاینده از خاک موثر بوده است (اسکالانت-اسپینوزا و همکاران<sup>۷</sup>، ۲۰۰۴). ویزکوسکی و زیولکوسکا<sup>۸</sup> (۲۰۰۹) ترکیبات نفتی را به مقادیر صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ سانتی متر مکعب در کیلوگرم خاک در گونه ای از براسیکا (*napus var. oleifera*) مورد استفاده قرار دادند که باعث کاهش عملکرد این گیاهان شده بود. با وجود این استفاده از ۱/۴۷ گرم کلسیم در کیلوگرم خاک (۵۰ درصد اکسید کلسیم) توانست اثر منفی ترکیبات نفتی را کاهش دهد.

صدمات اکسیداتیو در بسیاری از گیاهان موجب کاهش سنتز و افزایش هیدرولیز برخی از پروتئین ها می شود. آستانه این تاثیر در گیاهان مختلف متفاوت است. تنش اکسیداتیو علاوه بر اینکه روی سنتز پروتئین تاثیر دارد، باعث کاهش آن نیز می شود و می تواند روی تجزیه پروتئین ها اثر بگذارد (چیرکووا و همکاران<sup>۹</sup>، ۱۹۹۸). حمله برخی از رادیکال های فعال اکسیژن به پروتئین ها قابل برگشت نبوده و صدمات جبران ناپذیری را بدنبال خواهند داشت (ماکرسی<sup>۱۰</sup>، ۲۰۰۴).

بودن، سرطان زایی و ایجاد تغییرات جهش زا، وجود آنها در طبیعت، نگرانی های بسیاری را سبب شده است (چو و سئو<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵). روش های فیزیکی و شیمیایی متعددی (نظیر خاکبرداری، سخت و جامد کردن و دفن کردن در زیر خاک، شستشوی خاک، اکسیداسیون پیشرفته و غیره) برای مقابله با آلودگی های نفتی در خاک وجود دارد که بسیاری از آنها به سبب هزینه بالا و اثرات جانبی مضر، کمتر استفاده می شود. برای کاستن آلاینده ها در سال های اخیر به روش های زیستی نظیر گیاه پالایی<sup>۲</sup>، توجه بیشتری شده است. گیاه پالایی فناوری جدیدی است که در آن از گیاهان مقاوم برای حذف یا کاهش غلظت آلاینده های آلی و معدنی و کاهش اثرات مضر و زیان بار ترکیبات نفتی و سایر ترکیبات خطرناک از محیط زیست استفاده می شود. در واقع از آنجا که اغلب تنش ها با شروع یک تنش اکسیداتیو همراه می باشد. بنابراین در طی آن تولید و ذخیره گروه های سمی و مخرب اکسیژن آزاد افزایش می یابد. متعاقباً نشت الکترولیتی در طول تنش افزایش می یابد. پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در فسفولیپیدهای غشاء در افزایش مقدار نشت پذیری الکترولیتی غشاء دخالت دارد (اینز و وان مونتاگو<sup>۳</sup>، ۱۹۹۵). کلسیم با اثر حفاظتی بر ترکیبات غشایی باعث حفظ تمامیت غشاء می شود و به این ترتیب نشت الکتریکی کاهش می یابد (هپلر<sup>۴</sup>، ۲۰۰۵). هدف افزایش امکان پالایش خاک های آلوده و کاهش آلودگی تا سطح قابل قبول است. نتایج تحقیقات نشان داد که گیاهان باید به گونه ای انتخاب شوند که قابلیت رشد و از گار شدن با محیط آلوده را داشته باشند و امکان حداکثر جوانه زنی، رشد و توسعه و سطح ویژه ریشه را داشته باشد (آدام و دانکن<sup>۵</sup>، ۲۰۰۲). در عین حال گیاهان با نیاز آبی و غذایی کمتر و اقتصادی تر ترجیح

6- Harris et al.

7- Escalante-Espinosa et al.

8- Wyskowski &amp; Zilkowska

9- Chirkova et al.

10- Mckersie

1- Cho &amp; SEO

2- Phytoremediation

3- Inze &amp; Vanmontagu

4- Hepler

5- Adam &amp; Dunkan

حاوی ۱/۵ کیلوگرم خاک دست نخورده منطقه (دارای بافت و بافت شنی-لومی،  $pH=7/4$ ، هدایت الکتریکی ۱/۵ دسی زیمنس بر متر) منتقل شدند. در هر گلدان ۳ گیاه کشت گردید و پس از یک ماه رشد و استقرار گیاهان، یک گیاه در هر گلدان جهت اعمال تیمارها انتخاب شده و بقیه گیاهان اضافی در هر گلدان حذف گردیدند.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای اکسید کلسیم (صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد وزنی) و پساب نفتی پالایشگاه بندر عباس (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک) در ۴ تکرار اجرا گردید. اعمال تیمارها با اضافه کردن به خاک صورت گرفت و نمونه گیری (۹۰ روز پس از اعمال تیمارها) از برگ‌های میانی انجام شد. وزن خشک ساقه و ریشه، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز<sup>۲</sup> (APX)، غلظت مالون دی آلدهاید که شاخص میزان پراکسیداسیون چربی‌ها است، میزان پروتئین کل محلول، میزان نشت یونی، پس از ۹۰ روز اندازه گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) به روش پیشنهادی ناکانو و آسادا<sup>۳</sup> (۱۹۸۱) انجام گردید. جهت مطالعه فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش جذب سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل CECIL CE 2501 ساخت کشور انگلستان اقدام شد.

برای سنجش میزان پراکسیداسیون چربی غشاء، غلظت مالون دی آلدهاید (MDA) و سایر آلدهیدهای تولید شده توسط واکنش با اسید تیوباریتوریک<sup>۴</sup> (TBA) به روش پیشنهادی هیث و پاکر<sup>۵</sup> (۱۹۶۸) اندازه-اندازه گیری شد. سنجش میزان پروتئین کل محلول بر اساس روش پیشنهادی برادفورد<sup>۶</sup> (۱۹۷۶) انجام گردید.

مطالعات زیادی دلالت بر این دارد که کلسیم بعنوان پیامرسان ثانویه در تنش‌های غیرزنده در پاسخ به هورمون اسید ابسیزیک عمل می‌کند (ساندرز و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۲). این نکته باعث شده است که یون کلسیم نقش مهم و کلیدی در حفظ تمامیت و ساختار غشاها و دیواره‌های سلولی، پایداری غشاها، کنترل فعالیت آنزیم-ها و کنترل فعالیت کانال‌های یونی داشته باشد (کافی همکاران، ۱۳۸۸).

اگرچه گزارش‌های ارائه شده در خصوص گیاه-پالایی گیاهان زینتی در زمین‌های آلوده به هیدروکربن-های نفتی محدود است ولی شناخت گیاهان مقاوم و پالاینده و معرفی آنها می‌تواند در توسعه باغبانی، گسترش فضاهای سبز و بهبود اراضی حائز اهمیت باشد. گیاه کنوکارپوس با نام علمی *Conocarpus L. erectus* (از خانواده Combretaceae)، گیاه زینتی رایج در مناطق نیمه گرمسیری و گرمسیری است و به دلیل رشد سریع، قابلیت فرم‌دهی مناسب و تحمل قابل قبول به شوری در فضاهای سبز استان‌های جنوبی کشور بطور گسترده استفاده می‌شود (مختاری و همکاران، ۱۳۸۷). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات پساب نفتی و اکسید کلسیم بر فعالیت آنزیمی و برخی شاخص-های رشدی و بیوشیمیایی در گیاه کنوکارپوس و همچنین بررسی تحمل یا حساسیت این گیاه در برابر آلودگی‌های نفتی به منظور اهداف گیاه‌پالایی بود.

### مواد و روش‌ها

در سال ۱۳۸۸ دانه‌های ۴ برگی گیاه کنوکارپوس (*Conocarpus erectus L.*) با رشد تقریباً یکسان تهیه گردید و سپس به مزرعه آموزشی گروه باغبانی دانشگاه هرمزگان واقع در نه کیلومتری شرق بندر عباس (۲۷ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و ۵۶ درجه و ۲۶ دقیقه شرقی، ارتفاع ۱۲ متر از سطح دریا) با دمای  $33 \pm 5$  منتقل شدند. سپس گیاهان به کیسه گلدان‌های پلاستیکی

2- Ascorbate Peroxidase Enzyme Activity

3- Nakano & Asada

4- Tiobarbitoric acid

5- Heath & Packer

6- Bradford

1- Sanders *et al.*

به گیاه موجب تخریب غشاء و دیواره سلولی شده است (جدول ۲).

**وزن خشک ساقه و ریشه:** با مقایسه میانگین داده-های برهمکنش اکسیدکلسیم و پساب نفتی بر وزن خشک ساقه و ریشه پس از ۹۰ روز (جدول ۳) مشاهده شد وزن خشک ساقه با ۰/۵۱۸ گرم زمانی که پساب نفتی در بالاترین سطح (۲۰ میلی لیتر) بدون اکسیدکلسیم بکار رفت کاهش معنی داری حدود ۶۷ درصد از شاهد، داشت. همچنین نتایج نشان داد با افزایش پساب نفتی حتی تا سطح پنج میلی لیتر نیز وزن خشک ریشه با ۰/۲۸۳ گرم نسبت به شاهد ۰/۷۸۱ گرم کاهش معنی دار داشت. لکن در سطوح ۱۰ و ۱۵ میلی لیتر پساب نفتی نیز در وزن خشک ریشه نسبت به شاهد اختلاف معنی دار دیده شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها، تاثیر سطوح ۵ و ۲۰ میلی لیتر پساب نفتی بر کاهش وزن خشک ریشه نسبت به سطوح ۱۰ و ۱۵ میلی لیتر پساب نفتی بیشتر بود.

**میزان پراکسیداسیون چربی:** نتایج نشان داد در تیمار بدون کاربرد پساب نفتی، پراکسیداسیون چربی در برگ های گیاه کنوکارپوس در سطوح مختلف تیمار اکسیدکلسیم تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۳). در کمترین سطح تیمار پساب نفتی (۵ میلی لیتر در کیلوگرم خاک) کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۵ و ۷/۵ درصد موجب کاهش معنی دار میزان پراکسیداسیون چربی نسبت به تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم گردید. وقتی پساب نفتی به میزان ۱۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک بکار رفت مشاهده شد، پراکسیداسیون چربی در تیمار پنج درصد اکسید کلسیم به طور معنی-داری کمتر از پراکسیداسیون چربی در تیمار ۲/۵ درصد اکسید کلسیم بود. در غلظت ۱۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک پساب نفتی، پراکسیداسیون چربی در سایر سطوح اکسید کلسیم تفاوت معنی داری نداشتند. در غلظت ۱۵ میلی لیتر در کیلوگرم خاک پساب نفتی، پراکسیداسیون چربی در تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم با

جهت تعیین میزان نشت یونی به روش دیونسیو- سز و توییتا<sup>۱</sup> (۱۹۹۸) و رابطه زیر محاسبه گردید.

$$100 \times EC_1 / EC_2 = \text{نشت یونی (درصد)}$$

$$EC_1 = \text{هدایت الکتریکی اولیه پس از ۲ ساعت}$$

$$EC_2 = \text{هدایت الکتریکی ثانویه پس از اتوکلاو}$$

آنالیز آماری (تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و همبستگی) با استفاده از نرم افزار SPSS16 و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

### نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل پساب نفتی و اکسیدکلسیم بر وزن خشک ساقه و ریشه، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، میزان نشت یونی، میزان پراکسیداسیون چربی و پروتئین کل محلول در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود.

همچنین ضرایب همبستگی بین شاخص های رشدی و فیزیولوژیکی و آنزیمی در کنوکارپوس *Conocarpus erectus* L. تحت اثر اکسیدکلسیم و پساب نفتی نیز محاسبه و در جدول دو ارائه شده است. نتایج نشان داد که بین وزن خشک ساقه و ریشه همبستگی مثبت و معنی داری در سطح یک درصد (\*\*۰/۹۳۶+) وجود داشت. میزان فعالیت آنزیم APX با وزن خشک ساقه (\*\*۰/۳۱۳+)، وزن خشک ریشه (\*\*۰/۲۴۷+) و میزان پروتئین کل محلول (\*\*۰/۶۹۸+) نیز همبستگی مثبت و معنی داری در سطح یک درصد داشت. بدین ترتیب انتظار می رود اثر مستقیم پساب نفتی بتواند مقادیر صفات رشدی و فیزیولوژیکی را کاهش دهد، اما بکار بردن اکسید کلسیم از اثرات زیانبار پساب نفتی کاست. میزان نشت یونی و میزان پراکسیداسیون چربی با اکثر صفات رشدی و فیزیولوژیکی دارای همبستگی منفی بودند و نشان دهنده این است که تنش وارد آمده

کیلوگرم خاک، کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۲/۵ درصد موجب کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به سایر سطوح کاربرد اکسید کلسیم گردید. هم چنین پس از کاربرد ۵ میلی لیتر پساب نفتی در کیلوگرم خاک، پس از کاربرد غلظت‌های صفر و ۵ درصد اکسید کلسیم فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به طور معنی‌داری کمتر از فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۱۰ و ۷/۵ درصد اکسید کلسیم بود. در تیمارهای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی لیتر پساب نفتی در هر کیلوگرم خاک، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز پس از کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۱۰ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از فعالیت این آنزیم در سایر سطح اکسید کلسیم بود (جدول ۳).

#### میزان پروتئین کل محلول برگ: بدون کاربرد

پساب نفتی، کلیه سطوح اکسید کلسیم موجب کاهش معنی‌دار میزان پروتئین کل محلول برگ نسبت به شاهد گردید. کاربرد پساب نفتی به میزان ۵ میلی لیتر در هر کیلوگرم خاک، همراه با اکسید کلسیم به میزان ۱۰ درصد موجب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل محلول برگ نسبت به سایر تیمارهای اکسید کلسیم گردید و میزان کل پروتئین محلول برگ در سایر سطوح اکسید کلسیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در تیمار کاربرد پساب نفتیه میزان ۱۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک، بیشترین میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار ۱۰ درصد اکسید کلسیم و کمترین میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمارهای ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد اکسید کلسیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ولی به طور معنی‌داری بیشتر از میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار صفر و ۲/۵ درصد اکسید کلسیم بود. در غلظت ۲۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک پساب نفتی، کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۵ درصد موجب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین کل محلول برگ نسبت به سایر سطوح اکسید کلسیم گردید. هم چنین کاربرد اکسید کلسیم در سطوح

پراکسیداسیون چربی در تیمار ۲/۵ درصد اکسید کلسیم تفاوت معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری کمتر از پراکسیداسیون چربی در سایر سطوح کاربرد اکسید کلسیم بود. اما در بالاترین غلظت پساب نفتی (۲۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک)، بیشترین پراکسیداسیون چربی در تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم وجود داشت که به طور معنی‌داری با پراکسیداسیون چربی در سطوح مختلف اکسید کلسیم متفاوت بود. کاربرد کلیه سطوح اکسید کلسیم همراه با پساب نفتی به میزان ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک موجب کاهش پراکسیداسیون چربی نسبت به تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم گردید و پراکسیداسیون چربی در غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد اکسید کلسیم تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشتند.

#### میزان نشت یونی: در هر یک از سطوح پساب

نشت یونی در سطوح مختلف اکسید کلسیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت (جدول ۳). میزان نشت یونی در تیمارهای شاهد پساب نفتی به میزان ۱۵ میلی لیتر در کیلوگرم خاک و یا کاربرد پساب نفتی به میزان ۱۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک و پنج درصد اکسید کلسیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت ولی به طور معنی‌داری کمتر از میزان نشت یونی در تیمار ۱۰ میلی-گرم در لیتر پساب نفتی و ۱۰ درصد اکسید کلسیم بود. هم چنین پس از کاربرد پساب نفتی به میزان ۲۰ میلی لیتر پساب نفتی و کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۷/۵ یا ۱۰ درصد، میزان نشت یونی به طور معنی‌داری کمتر از میزان نشت یونی در تیمار ۵ میلی لیتر در لیتر در کیلوگرم پساب نفتی و ۱۰ درصد اکسید کلسیم بود.

#### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: مقایسه

میانگین داده‌ها نشان داد بدون کاربرد پساب نفتی، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای ۷/۵ و ۱۰ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ولی به طور معنی‌داری کمتر از فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای صفر، ۲/۵ و ۵ درصد اکسید کلسیم بود. در تیمار پساب نفتی به میزان ۵ میلی لیتر در

**جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات اکسید کلسیم و پساب نفتی بر برخی از شاخص های رشدی و فیزیولوژیک گیاه کنوکارپوس *Conocarpus erectus* L**

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	نشت یونی	پراکسیداسیون چربی	فعالیت آنزیم APX	میزان کل پروتئین محلول
اکسید کلسیم	۴	۰/۳۷۷**	۰/۰۹**	۲/۴۲۰ <sup>ns</sup>	۹/۷۹۵**	۴۷۳/۴۸**	۱۲/۸۰۱**
پساب نفتی	۴	۰/۳۰۹**	۰/۰۶۴*	۳۲/۵۴۸*	۴۷/۷**	۲۶۱۱/۴۹۷**	۲۴/۹۴۸**
اکسید کلسیم X پساب نفتی	۱۶	۰/۳۰۸**	۰/۰۷۷**	۴۱/۶۵۹**	۱۴/۴۱۴**	۲۶۷/۹۰۱**	۳/۲۵۵**
خطا	۷۵	۰/۰۲۸	۰/۰۱۲	۱۲/۸۲۶	۲/۱۶۹	۱۴/۴۶۳	۰/۱۶۲

\*\* اختلاف معنی دار آماری در سطح ۱٪      \* اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪

**جدول ۲- ضرایب همبستگی اثرات اکسید کلسیم و پساب نفتی بر برخی از شاخص های رشدی و فیزیولوژیک گیاه کنوکارپوس *Conocarpus erectus* L**

وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	میزان نشت یونی	پراکسیداسیون چربی	فعالیت آنزیم APx	میزان کل پروتئین محلول
۱					
۰/۹۳۶**	۱				
-۰/۰۵۱ <sup>ns</sup>	-۰/۰۹۰ <sup>ns</sup>	۱			
-۰/۰۹۶ <sup>ns</sup>	-۰/۰۶۸ <sup>ns</sup>	+۰/۰۳۶ <sup>ns</sup>	۱		
+۰/۳۱۳**	+۰/۲۴۷**	-۰/۰۴۱ <sup>ns</sup>	+۰/۱۸۰ <sup>ns</sup>	۱	
+۰/۴۶۷**	+۰/۳۴۷**	-۰/۰۲۸ <sup>ns</sup>	+۰/۱۰۶ <sup>ns</sup>	+۰/۶۹۸**	۱

\* معنی داری در سطح ۵٪      \*\* معنی داری در سطح ۱٪

جدول ۳- برهم کنش پساب نفتی و اکسید کلسیم بر برخی شاخص های رشدی و فیزیولوژیک گیاه کنوکارپوس  
*Conocarpus erectus*

شاخص های رشدی و فیزیولوژیکی							تیمارها
میزان کل پروتئین محلول (میلی گرم/خاک)	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد آنزیمی/میلی گرم)	میزان پراکسیداسیون چربی (میکرومول در گرم وزن خشک)	میزان نشت یونی (درصد)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	اکسید کلسیم (درصد)	پساب نفتی (میلی لیتر/ کیلوگرم خاک)
۷/۸۸ <sup>a</sup>	۷۱/۶۴ <sup>a</sup>	۱۳/۵۱ <sup>bcd</sup>	۱۸/۸۳ <sup>c</sup>	۰/۷۸۱ <sup>a</sup>	۱/۵۹ <sup>a</sup>	۰	
۶/۳۱ <sup>cde</sup>	۷۱/۹۹ <sup>a</sup>	۱۳/۸۷ <sup>bc</sup>	۲۲/۲۸ <sup>abc</sup>	۰/۴۴۴ <sup>cdef</sup>	۰/۹۰۵ <sup>defghi</sup>	۲/۵	
۶/۹۴ <sup>bc</sup>	۶۷/۰۷ <sup>ab</sup>	۱۳/۰۸ <sup>bcd</sup>	۲۶/۸۴ <sup>abc</sup>	۰/۵۳۸ <sup>bcd</sup>	۱/۰۶۸ <sup>cdef</sup>	۵	۰
۶/۵۸ <sup>bcd</sup>	۶۰/۷ <sup>bc</sup>	۱۳/۵۸ <sup>bcd</sup>	۲۱/۳۷۳ <sup>abc</sup>	۰/۳۲۱ <sup>def</sup>	۰/۷۱۵ <sup>fghij</sup>	۷/۵	
۷/۰۶ <sup>bc</sup>	۵۶ <sup>cd</sup>	۱۳/۴۶ <sup>bcd</sup>	۲۴/۵۰ <sup>abc</sup>	۰/۵۳۹ <sup>bcd</sup>	۱/۴۵ <sup>ab</sup>	۱۰	
۳/۸۵ <sup>klm</sup>	۳۸/۹۲ <sup>fgh</sup>	۱۴/۱۶ <sup>bc</sup>	۲۲/۷۲ <sup>abc</sup>	۰/۲۸۳ <sup>ef</sup>	۰/۵۹۸ <sup>ij</sup>	۰	
۴/۵۴ <sup>ijk</sup>	۲۴/۸۹ <sup>i</sup>	۱۱/۳۳ <sup>cdefg</sup>	۲۰/۶۹ <sup>abc</sup>	۰/۵۱۵ <sup>bcd</sup>	۱/۰۲۹ <sup>defg</sup>	۲/۵	
۴/۲۳ <sup>kl</sup>	۳۸/۰۷ <sup>fgh</sup>	۹/۰۶ <sup>g</sup>	۲۴/۰۹ <sup>abc</sup>	۰/۵۸۳ <sup>abc</sup>	۱/۱۳۸ <sup>bcd</sup>	۵	۵
۳/۸۶ <sup>klm</sup>	۴۷/۹۲ <sup>e</sup>	۹/۸۷ <sup>fg</sup>	۲۴/۰ <sup>abc</sup>	۰/۲۴۸ <sup>f</sup>	۰/۶۰۶ <sup>hij</sup>	۷/۵	
۶/۱۳ <sup>efg</sup>	۵۹/۱ <sup>c</sup>	۱۱/۵۱ <sup>cdefg</sup>	۲۸/۳۳۳ <sup>a</sup>	۰/۶۹۱ <sup>ab</sup>	۱/۴۰۷ <sup>abc</sup>	۱۰	
۲/۷۵ <sup>o</sup>	۳۵/۳۵ <sup>gh</sup>	۱۰/۵۶ <sup>cdefg</sup>	۲۵/۷۶ <sup>abc</sup>	۰/۴۰۳ <sup>cdef</sup>	۰/۸۸ <sup>defghij</sup>	۰	
۵/۷۷ <sup>defg</sup>	۳۶/۵۰ <sup>gh</sup>	۱۲/۷۵ <sup>bcd</sup>	۲۴/۲۴ <sup>abc</sup>	۰/۵۱۵ <sup>bcd</sup>	۱/۱۳۵ <sup>bcd</sup>	۲/۵	
۳/۶۰ <sup>lmn</sup>	۳۶ <sup>gh</sup>	۹/۱۶ <sup>g</sup>	۱۹/۰۹ <sup>c</sup>	۰/۳۳۲ <sup>def</sup>	۰/۶۹۶ <sup>ghij</sup>	۵	۱۰
۵/۱۸ <sup>ghi</sup>	۳۶/۶۰ <sup>gh</sup>	۱۱/۹۸ <sup>bcd</sup>	۲۶/۴۹ <sup>abc</sup>	۰/۳۱۰ <sup>def</sup>	۰/۶۸۱ <sup>ghij</sup>	۷/۵	
۷/۱۴ <sup>ab</sup>	۴۵/۴۲ <sup>f</sup>	۱۲/۱۶ <sup>bcd</sup>	۲۰/۹۲ <sup>abc</sup>	۰/۴۷۳ <sup>bcd</sup>	۱/۰۷۶ <sup>cde</sup>	۱۰	
۳/۲۵ <sup>mno</sup>	۳۲/۸ <sup>h</sup>	۱۰/۰۹ <sup>efg</sup>	۱۸/۹۴ <sup>c</sup>	۰/۵۱۵ <sup>bcd</sup>	۱/۰۳۰ <sup>defg</sup>	۰	
۳/۶۷ <sup>lmn</sup>	۴۸/۳۲ <sup>e</sup>	۱۲/۱۶ <sup>bcd</sup>	۱۹/۴۴ <sup>bc</sup>	۰/۴۳۷ <sup>cdef</sup>	۰/۸۴ <sup>efghij</sup>	۲/۵	
۴/۸۹ <sup>hij</sup>	۴۳/۲۱ <sup>efg</sup>	۱۴/۲۷ <sup>bc</sup>	۲۰/۴۱ <sup>abc</sup>	۰/۴۰۷ <sup>cdef</sup>	۰/۸۲۷ <sup>efghij</sup>	۵	۱۵
۵/۵۴ <sup>efgh</sup>	۴۸/۴۶ <sup>e</sup>	۱۴/۲۰ <sup>bc</sup>	۲۳/۰ <sup>abc</sup>	۰/۵۱۹ <sup>bcd</sup>	۱/۱۰۶ <sup>bcd</sup>	۷/۵	
۵/۴۲ <sup>efgh</sup>	۶۱/۷ <sup>bc</sup>	۱۵/۱۱ <sup>b</sup>	۲۱/۷۱ <sup>abc</sup>	۰/۵۸۸ <sup>abc</sup>	۱/۱۲۸ <sup>bcd</sup>	۱۰	
۲/۹۸ <sup>no</sup>	۳۵/۳۹ <sup>gh</sup>	۱۹/۳۰ <sup>a</sup>	۲۷/۳۴ <sup>ab</sup>	۰/۲۶۱ <sup>f</sup>	۰/۵۱۸ <sup>i</sup>	۰	
۳/۶۳ <sup>lmn</sup>	۳۶/۹۲ <sup>gh</sup>	۱۲/۸۳ <sup>bcd</sup>	۲۴/۹۶ <sup>abc</sup>	۰/۴۳۶ <sup>cdef</sup>	۰/۹۶۴ <sup>defgh</sup>	۲/۵	
۳/۹۷ <sup>klm</sup>	۳۳/۹ <sup>h</sup>	۱۳/۲۵ <sup>bcd</sup>	۲۵/۶۸ <sup>abc</sup>	۰/۶۲۳ <sup>abc</sup>	۱/۲۲۳ <sup>bcd</sup>	۵	۲۰
۴/۴۱ <sup>ijkl</sup>	۳۴/۵ <sup>h</sup>	۱۴/۲۰ <sup>bc</sup>	۱۹/۸۵ <sup>bc</sup>	۰/۳۳۴ <sup>def</sup>	۰/۶۹۷ <sup>ghij</sup>	۷/۵	
۵/۷۵ <sup>efg</sup>	۵۰/۶۷ <sup>de</sup>	۱۴/۵۶ <sup>bc</sup>	۱۹/۷۸ <sup>bc</sup>	۰/۳۰۷ <sup>def</sup>	۰/۶۵۱ <sup>hij</sup>	۱۰	

های دیزلی بر دو گیاه ذرت و جو دوسر، نحوه جذب عناصر ماکرو را تغییر داد که نوسان مقدار عناصر در اندام های گیاهی به اضافه اثرات مستقیم مشتقات نفتی بیوماس ریشه و اندام هوایی را تغییر داد. این تاثیر در فازهای ابتدائی رشد گاهی باعث تخریب کامل گیاه می-شود. به طوری که استفاده از اکسید کلسیم از اثرات منفی ترکیبات نفتی کاست و محتوای نیتروژن و دیگر عناصر ماکرو را در گیاه ذرت افزایش داد (ویزکوسکی و

و ۷/۵ درصد میزان پروتئین کل محلول برگ را نسبت به تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم افزایش داد.

**بحث**

در اندام های هوایی و ریشه گیاه کنوکارپوس در اثر آلاینده نفتی، کاهش رشد مشاهده شد که با به کار بردن اکسید کلسیم از تاثیرات منفی پساب نفتی کاسته شد و باعث افزایش شاخص های رشدی گردید. تاثیر سوخت-

۲/۵ درصد اکسید کلسیم بود. در غلظت ۲۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک پساب نفتی، کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۵ درصد موجب افزایش معنی دار میزان پروتئین کل محلول برگ نسبت به سایر سطوح اکسید کلسیم گردید. هم چنین کاربرد اکسید کلسیم در سطوح ۵ و ۷/۵ درصد میزان پروتئین کل محلول برگ را نسبت به تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم افزایش داد. نسبت به سایر تیمارهای اکسید کلسیم گردید و میزان کل پروتئین محلول برگ در سایر سطوح اکسید کلسیم تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. در تیمار کاربرد پساب نفتی به میزان ۱۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک، بیشترین میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار ۱۰ درصد اکسید کلسیم و کمترین میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم وجود داشت. در تیمار کاربرد پساب نفتی به میزان ۱۵ میلی لیتر در کیلوگرم خاک، میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمارهای ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد اکسید کلسیم تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ولی به طور معنی داری بیشتر از میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار صفر و ۲/۵ درصد اکسید کلسیم بود. در غلظت ۲۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک پساب نفتی، کاربرد اکسید کلسیم به میزان ۵ درصد موجب افزایش معنی دار میزان پروتئین کل محلول برگ نسبت به سایر سطوح اکسید کلسیم گردید. هم چنین کاربرد اکسید کلسیم در سطوح ۵ و ۷/۵ درصد میزان پروتئین کل محلول برگ را نسبت به تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم افزایش داد. ین بررسی آنزیم آسکوربات پراکسیداز هنگام تنش با تیمار کلسیم افزایش یافت که به نظر می رسد در تجزیه پراکسید هیدروژن دخالت داشته است. تنش اکسیداتیو با تغییر در ساختمان پروتئین ها سبب کاهش فعالیت بسیاری از آنزیم های موجود در گیاه می شود. احتمالاً تیمار اکسید کلسیم در پایداری و تکامل دیواره سلولی و غشای پلاسمایی دارای نقش است. مصرف خارجی کلسیم برای ثبات غشای پلاسمایی، تنظیم جذب یونی مؤثر

زیلکوسکا، ۲۰۰۹). بسیاری از مطالعات و پژوهش ها نشان دادند که تجمع مالون دی آلدهاید و پراکسید هیدروژن بوسیله اغلب تنش ها ایجاد می شود، به این معنی که کاهش در فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی در شرایط تنش می شود. بنابراین کاهش سطح مالون دی آلدهاید در نتیجه افزایش فعالیت های آنزیم های اکسیداتیو بوده که سطح آب اکسیژنه و آسیب های غشایی را کاهش می دهد (سایرام و سریواستاوا<sup>۱</sup>، ۲۰۰۲). به طوری که یافته های این آزمایش در مشابهنه با گزارش های فوق است. سطح گونه های اکسیژن واکنشگر در سلول های گیاهان معمولاً توسط فعالیت آنتی اکسیدان ها کنترل می شود (آرورا و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۲). آنزیم APX، باعث حذف پراکسیدهای هیدروژن ناشی از احیای نوری اکسیژن فتوسیستم یک می شوند (اسمیرنوف<sup>۳</sup>، ۱۹۹۶). جلوگیری از تجمع پراکسید هیدروژن، ترکیبی که حتی خطرناک تر از رادیکال های سوپراکسید است از طریق آنزیم APX صورت می گیرد که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می کند (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲). در نسبت به سایر تیمارهای اکسید کلسیم گردید و میزان کل پروتئین محلول برگ در سایر سطوح اکسید کلسیم تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. در تیمار کاربرد پساب نفتی به میزان ۱۰ میلی لیتر در کیلوگرم خاک، بیشترین میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار ۱۰ درصد اکسید کلسیم و کمترین میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار بدون کاربرد اکسید کلسیم وجود داشت. در تیمار کاربرد پساب نفتی به میزان ۱۵ میلی لیتر در کیلوگرم خاک، میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمارهای ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد اکسید کلسیم تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ولی به طور معنی داری بیشتر از میزان پروتئین کل محلول برگ در تیمار صفر و

1- Sairam &amp; Srivastava

2- Arora et al.

3- Smirnoff



پراکسیداز و پروتئین کل نسبت به شاهد شد، در حالی که پساب نفتی در خاک باعث افزایش نشت یونی و پراکسیداسیون چربی گردید که نشان دهنده وارد آمدن تنش به گیاه کنوکارپوس (*erectusL Conocarpus*) می‌باشد. تیمار اکسیدکلسیم باعث بهبود میزان نشت یونی، میزان پراکسیداسیون چربی، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و میزان پروتئین کل محلول و همچنین بهبود مولفه‌های رشدی در گیاه کنوکارپوس (*Conocarpus erectusL.*) گردید. بنابراین با توجه به مقاومت نسبی گیاه کنوکارپوس به تنش پساب‌های نفتی و اثر مطلوب تیمار اکسید کلسیم، شاید بتوان این گیاه را با ویژگی گیاه‌پالایی معرفی کرد.

است (هپلر، ۲۰۰۵). در این تحقیق اکسیدکلسیم بکار رفته در گیاه کنوکارپوس باعث بهبود وزن خشک ساقه و ریشه، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، کاهش میزان نشت یونی و میزان پراکسیداسیون چربی و نیز افزایش پروتئین کل محلول دخالت داشت کلسیم باعث حفظ انسجام غشاء و پایداری دیواره سلولی است و بصورت یونی در شکل‌گیری بسیاری از فرایندهای گیاهی نقش دارد (مختاری و همکاران، ۱۳۸۷).

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که به‌رغم تحمل نسبی دانه‌ها به پساب نفتی افزایش غلظت پساب نفتی باعث کاهش وزن خشک ساقه و ریشه، فعالیت آنزیم آسکوربات

### منابع

۱. بسالت پور، ع.ا.، عباسی، م.ع.، خوشگفتارمنش، ا.ح. و افیونی، م.ا. ۱۳۸۷. واکنش برخی از گیاهان به آلاینده‌های نفتی موجود در خاک‌های اطراف پالایشگاه تهران، مجله علوم و فنون باغبانی، ۱۲: ۴۴.
۲. کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. ۱۳۸۸. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، چاپ اول. صص: ۴۲۹-۴۵۲.
۳. صفیاری، ش. ۱۳۸۰. جنگل‌های مانگرو، انتشارات سازمان جنگل‌ها و مراتع، صص: ۱-۶۰.
۴. مختاری، ا.، ابریشم‌چی، پ. و گنجعلی، ع. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر کلسیم در بهبود آسیب‌های ناشی از تنش شوری بر جوانه زنی بدور گوجه‌فرنگی، مجله علوم و صنایع کشاورزی، ویژه علوم باغبانی، ۲۲: ۱.
5. Adam, G., and Duncan, H. 2002. Influence of diesel fuel on seed germination. *Journal Environmental*, 120: 363-370.
6. Arora, A., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. *Annual Review of Current Science*, 82: 1227-1238.
7. Blokhin, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K. 2003. Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Review Annuals of Botany*. 91: 179-194.
8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-252.

9. Chirkova, T., Novitskaya, V., and Blokhina, O.B. 1998. Lipid peroxidation and antioxidant systems under anaerobic in plants differing in their tolerance to oxygen deficiency. *Russian Journal of Plant Physiology*, 45: 55-62.
10. Cho, U., and Seo, N. 2005. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science*, 168: 113-120.
11. Dionisio-Sese, M.L., and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135:1-9.
12. Escalante-Espinosa, E., Gallegos-Martinez, M.E., Favela-Torres, E., and Gutierrez-Rojas, M. 2004. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system. *Journal of Chemosphere*, 59: 405-413.
13. Esmaili, A., and Zare-Maivan, H. 1998. Environmental pollution of Iran as a consequence of the Iraq – Kuwait war. *Educational and Research: Ministry of Jihad Sazandegi*, 5: 43-50.
14. Harris, J.A., Birch, P., and Palmer, J. 1996. Land restoration and reclamation principles and practice. *Addison Wesley/Longman*, 12: 34-67.
15. Heath, R.L., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Biochemistry*, 125: 189-198.
16. Hepler, P.K. 2005. A Central of plant growth and development. *Plant Physiology*, 17: 2142-2155.
17. Inze, D., and Vanmontagu, M. 1995. Oxidative stress in plants. *Plant Physiology*, 6: 53-158.
18. Joner, E.J., and Leyval, C. 2001. Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal Mycorrhiza*, 10: 155-159.
19. Knight, H., Trewavas, A.j., and knight, M.R. 1996. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* in volves two cellular pools and a chang in calcium signature after acclimation. *Plant Cell*, 8: 489-503.
20. Mckersie, B.D.S. 2004. Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing ascorbate peroxidase. *Plant Physiology*, 111: 1177-1181.
21. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22: 867-880.
22. Palmroth, M.R.T., Pichtel, J., and Puhakka, J.A. 2002. Phytoremediation of sub-arctic soil contaminated with diesel fuel. *Journal of Bioresource Technology*, 84: 221-28.
23. Pulford, I.D., and Watson, C. 2003. Phytoremediation of heavy metal contaminated land by tree a review. *Journal of Environmental*, 29: 529-40.

24. Rababah, A., and Matsuzawa, S. 2002. Treatment system for solid matrix contaminated with fluoranthene 11 recirculating photodegradation techniques. *Journal of Chemosphere*, 46: 49-57.
25. Ryan, K.M., Mary, K., and Firestone, M. 2001. Enhanced phenanthrene biodegradation in soil by slender oat root exudates and root debris. *Journal of Environmental*, 30: 1911-1918.
26. Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, 162: 897-904.
27. Sanders, D., Pelloux, J., Brownlee, C., and Harper, J.F. 2002. Calcium at the cross roads of signaling. *Plant Cell Physiology*, 14: 401– 417.
28. Sheen, J. 1996.  $Ca^{+2}$ - dependent protein kinases and stress signal transduction in plants. *Plant Physiology*, 274: 1900-1902.
29. Siddiqui, S., and Adams, W.A. 2001. The Fate of diesel hydrocarbons in soils and their effect on the germination of Perennial Ryegrass. *Journal of Environmental*, 118: 49-62.
30. Smirnoff, N. 1996. The Function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 78: 661- 669.
31. Van Epps, A. 2006. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons. *U.S. Environmental Protection*, 173 p.
32. Wyszowski, M., and Ziłkowska, A. 2009. Role of compost, bentonite and calcium oxide in restricting the effect of soil contamination with petrol and diesel oil on plants. *Journal of Chemosphere*, 74: 860–865.