

تأثیر سطوح هیدروکربن‌های نفتی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو رقم برموداگرس

زهرا سرائیان^۱، نعمت‌اله اعتمادی^{۱*}، مریم حقیقی^۱، محمدعلی حاج‌عباسی^۲ و مجید افیونی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۴)

چکیده

هیدروکربن‌های نفتی یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های خاک در مناطق نفت‌خیز می‌باشند. حضور این ترکیبات در خاک سبب ایجاد انواع تنش‌ها در گیاهان شده و شرایط را برای رشد گیاهان نامساعد می‌سازند. بنابراین، جهت ایجاد فضای سبز در مناطق آلوده نیاز به استفاده از گیاهان مقاوم به این تنش‌ها می‌باشد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر حضور مواد نفتی در خاک به نسبت‌های صفر، ۲/۱، ۳/۸۷ و ۱۲/۲۵ درصد وزنی (هیدروکربن‌های نفتی: خاک) بر ویژگی‌های مورفولوژیک دو گونه بومی و غیر بومی برموداگرس می‌باشد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، انجام شد. نتایج نشان داد که حضور ۲/۱ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک سبب کاهش معنی‌دار ۳/۳ و ۵ درصدی در میزان رنگ و تراکم چمن‌ها شد. حضور این میزان آلاینده در خاک، رشد برموداگرس بومی و غیربومی را ۳۱/۱ و ۷/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. افزایش میزان آلاینده‌های خاک همچنین سبب کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب و میزان کلروفیل و افزایش میزان پرولین داخلی گیاهان شد. همچنین، افزایش غلظت آلاینده‌ها تا میزان ۲/۱ درصد سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. ولی حضور مقادیر بیشتری از این مواد در خاک، فعالیت این آنزیم را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. به‌طور کلی، در انتهای آزمایش هر دو گونه چمن کیفیت ظاهری قابل قبولی داشتند و در نتیجه می‌توانند جهت کاشت در مناطق آلوده به هیدروکربن‌های نفتی توصیه شوند؛ اگرچه وضعیت کیفیت و رشد برموداگرس غیر بومی در خاک‌های آلوده بهتر از برموداگرس بومی بود.

واژه‌های کلیدی: برموداگرس، مواد نفتی، رشد، کلروفیل، پرولین

مقدمه

محیط‌زیست، از اهمیت زیادی برخوردارند (۴۲). از دلایل عمده آلودگی خاک‌ها به آلاینده‌های نفتی می‌توان به نشت نفت از لوله‌های انتقال و یا سرریز از مخازن ذخیره، تصادف و واژگونی خودروهای حامل نفت خام و یا ترکیبات مشتق شده از آن و یا رهاسازی ضایعات و پسماندهای پالایشگاه‌ها در محیط‌زیست اشاره کرد (۴۱).

ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان نفت در جهان است و حدود ۹٪ نفت جهان را در اختیار دارد. در طول جنگ تحمیلی، بیش از ۶ تا ۸ میلیون بشکه نفت خام در خلیج فارس

بر اساس گزارش‌های منتشر شده، بیش از ۲۰٪ از اراضی کره زمین در معرض آلودگی با مواد شیمیایی قرار دارند. حضور آلاینده‌ها در خاک می‌تواند کیفیت و سلامت خاک را دچار اختلال کرده و در نهایت سلامت انسان را به خطر بیندازد (۳). در یک تقسیم‌بندی، می‌توان آلاینده‌های خاک را در دو گروه کلی آلاینده‌های آلی و معدنی طبقه‌بندی نمود. هیدروکربن‌های نفتی از جمله آلاینده‌های آلی می‌باشند. این مواد به دلیل داشتن اثرهای سمی و پایداری بسیار زیاد در خاک، به عنوان آلاینده

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات؛ پست الکترونیکی: etemadin@cc.iut.ac.ir

مشاهده شده است. محصول کم اساساً به دلیل دسترسی کم به نیتروژن در این گونه خاک‌ها است. همچنین، شرایط خشکی و شوری که گاهی در محل‌های آلوده به هیدروکربن‌ها اتفاق می‌افتند، مانع رشد ریشه گیاه می‌شوند (۳۴).

مطالعه توانایی تخریب هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای توسط چهار گیاه بومی کره توسط لی و همکاران (۲۲) نشان داد که در سه گیاه، وزن خشک ریشه‌های حاصل پس از ۸۰ روز رشد در خاک آلوده به هیدروکربن‌های فنانتین و پیرین تفاوت معنی‌داری با خاک غیر آلوده (تیمار شاهد) نداشت و تنها در یکی از گیاهان به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. ژانگ و همکاران (۴۴) مشاهده کردند که پس از ۱۲۷ روز، طول ریشه گیاهان *Pharbitis nil* L. رشد یافته در خاک‌های آلوده به ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم بر کیلوگرم هیدروکربن‌های نفتی، تفاوت معنی‌داری با طول ریشه گیاهان تیمار شاهد (خاک غیر آلوده) نداشت. اما وجود ۴۰ گرم بر کیلوگرم هیدروکربن‌های نفتی در خاک، سبب کاهش معنی‌دار این پارامتر نسبت به تیمار شاهد شد. گاسکین و همکاران (۱۷) در بررسی توان رشد ۹ گراس بومی استرالیا، به ارزیابی خصوصیات رشدی سه گونه برتر در خاک‌های آلوده به مواد نفتی پرداختند. ایشان دریافتند که پاسخ رشدی گونه‌های مختلف چمن به حضور آلودگی در خاک متفاوت است. رابسون و همکاران (۳۵) با اندازه‌گیری فاکتورهایی نظیر زیست‌توده کل، زیست‌توده ریشه و نرخ رشد نسبی ۳۹ گیاه بومی کانادا در خاک‌های آلوده به نفت خام دریافتند که افزودن ۵/۰، ۱ و ۵ درصد نفت خام به خاک، به طور معنی‌داری موجب کاهش حداقل ۲۲ درصدی در زیست‌توده کل و همچنین کاهش نرخ رشد نسبی همه گونه‌ها، بجز یکی از آن‌ها، نسبت به تیمار شاهد شده است. مرکل و همکاران (۲۹) نیز در ارزیابی سه گیاه علفی گرمسیری جهت گیاه‌پالایی مواد نفتی مشاهده کردند که پس از اتمام دوره ۱۸۰ روزه آزمایش، وزن خشک اندام هوایی هر سه گیاه مورد مطالعه در خاک‌های آلوده به ۵٪ وزنی نفت خام سنگین، به طور معنی‌داری کمتر از خاک غیر آلوده بود. پنگ و همکاران (۳۲) با بررسی پارامترهایی از جمله ارتفاع، وزن تر و وزن خشک گیاه

ریخته شد و مقادیر عظیمی از این آلودگی‌ها به خاک خوزستان منتقل گردید (۵). ابراهیمی و همکاران (۱) در بررسی اراضی محدوده پالایشگاه گاز سرخون بندرعباس، آلودگی این منطقه به آلاینده‌های نفتی را گزارش کردند. آلودگی خاک‌های اطراف پالایشگاه نفت تهران نیز در مقالات زیادی گزارش شده است (۳، ۷ و ۹). شادی‌زاده و زویداوین‌پور (۴) نیز در پژوهشی به تعیین میزان آلودگی‌های نفتی اطراف پالایشگاه آبادان پرداختند. مهراسی و همکاران (۲۸) آلودگی خاک اطراف پالایشگاه زنجان را گزارش نمودند. در کشور ما، با توجه به محدود بودن منابع خاک و آب زیرزمینی، آلودگی خاک یکی از مهم‌ترین معضلات زیست‌محیطی به شمار می‌آید.

آلودگی خاک‌ها موجب می‌شود تا کشت گیاه و ایجاد فضای سبز در مناطق آلوده با مشکل روبرو شود. زیرا گیاهان رشد یافته در خاک‌های آلوده معمولاً با ترکیبی از تنش‌های خشکی، کمبود مواد غذایی و سمیت شیمیایی مواجه می‌شوند (۱۸ و ۴۰). لذا، بهتر است جهت ایجاد فضای سبز در مناطق با خاک‌های آلوده به مواد نفتی از گیاهان مقاوم استفاده شود.

یکی از عناصر اصلی فضای سبز، چمن‌ها هستند که مهم‌ترین گیاه پوششی جهان هم محسوب می‌شوند (۱۲). چمن‌ها متعلق به خانواده گندمیان‌اند. برموداگرس یا چمن آفریقایی (*Cynodon sp.*) متعلق به زیرخانواده اراگروستوئیده (۶) از چمن‌های گرمسیری بوده که مقاومت به گرما و خشکی مناسبی دارد. این بدین معناست که در فصل تابستان نیاز به آبیاری نداشته و یا به آبیاری کمی احتیاج دارد (۲). این گیاه می‌تواند به وسیله ساقه رونده، ریزوم و بذر تکثیر شود. لذا، می‌تواند به صورت رویشی در خاک‌های آلوده استقرار یابد (۳۴). همچنین، چمن‌های فصل گرم با داشتن خصوصیات ذاتی مثل ریشه‌های افشان عمیق و مقاومت به خشکی می‌توانند گزینه مناسبی جهت کاشت در مناطق آلوده باشند (۱۷).

هیدروکربن‌ها در خاک، ریشه‌های گیاه را پوشانده و از جذب آب و اکسیژن جلوگیری می‌کنند. در گیاهان رشد یافته در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌ها، کاهش محصول هم

تأثیر سطوح هیدروکربن‌های نفتی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو رقم برموداگرس

درجه سلسیوس و دمای شبانه ۱۰-۱۳ درجه سلسیوس بود. جهت آماده‌سازی محیط کشت، لجن آبگیری شده واحد بازیافت آب پالایشگاه اصفهان پس از خرد شدن به گونه‌ای با خاک زراعی مخلوط شد که چهار تیمار L۱ شاهد (خاک غیر آلوده)، L۲ با ۲/۱ درصد وزنی (۲۱ mg/kg)، L۳ با ۳/۸۷ درصد وزنی (۳۸/۷۵ mg/kg) و L۴ با ۱۲/۲۵ درصد وزنی (۱۲۲/۵ mg/kg) هیدروکربن‌های نفتی در خاک (W_{oil}/W_{soil}) به وجود آمدند. خاک‌های آلوده شده به لجن به صورت جداگانه در گلدان‌ها ریخته شدند و در هر گلدان چهار تکه ۵×۵ cm² از یک رقم برموداگرس کشت شد. به طوری که حدود ۵۰٪ از سطح گلدان‌ها را پر کردند. در طول دوره آزمایش، جهت جلوگیری از آشنوی هیدروکربن‌های خاک، آب زهکش شده به زیرگلدانی جمع‌آوری شد و مجدداً برای همان گلدان مورد استفاده قرار گرفت. برای هر تیمار خاکی، سه تکرار بدون گیاه نیز برای حذف اثرهای محیطی بر کاهش غلظت آلاینده‌های نفتی موجود، در نظر گرفته شد.

برای تعیین رنگ و تراکم از امتیازدهی بصری (۱ تا ۹) توسط ارزیاب باتجربه و بر اساس دستورالعمل برنامه ملی ارزیابی چمن (National Turfgrass Evaluation Program, NTEP) (۳۱) استفاده شد. امتیاز ۹ به رنگ سبز تیره و پوشش کامل سطح گلدان و امتیاز ۱ به رنگ زرد و عدم پوشش سطح گلدان توسط چمن اختصاص داده شد. در طول دوره آزمایش، هر دو هفته یکبار رنگ اندازه‌گیری شد. میانگین این اندازه‌گیری‌ها در سه نوبت گزارش گردید. تراکم در روزهای ۷۰، ۱۴۰ و ۲۱۰ تعیین شد. میزان رشد (ارتفاع) بوته‌ها هر دو هفته یکبار اندازه‌گیری گردید و به صورت تجمعی یادداشت شد. بدین منظور، در هر گلدان، در سه نقطه، ارتفاع چمن به طور تصادفی توسط خط‌کش با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری گردید و سپس میانگین سه عدد حاصل، به عنوان ارتفاع آن واحد آزمایشی یادداشت شد. اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC) به روش غلام و همکاران (۱۹) صورت گرفت. بدین منظور، قطعات برگ با ترازی حساس وزن شده و وزن آن‌ها به عنوان وزن تازه (FW) در نظر گرفته شد. سپس، برگ‌ها به مدت

زیتنی لاله‌عباسی در خاک آلوده به سطوح مختلف مواد نفتی، نشان دادند که این گیاه تحمل ویژه‌ای به آلودگی نفتی دارد؛ اگرچه میزان رشد در خاک‌های آلوده، کمتر از خاک شاهد بود. لی و همکاران (۲۳) در بررسی واکنش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) به وجود دو هیدروکربن فنانتترین و پیرین در سطوح مختلف در خاک، مشاهده کردند که گیاهان رشد یافته در خاک‌های با بیشترین میزان آلودگی (۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) زیست‌توده، محتوای آب و محتوای کلروفیل کمتر، و نشت الکترولیتی ساقه و میزان کربوهیدرات محلول بیشتری نسبت به گیاهان رشد یافته در خاک غیر آلوده داشتند.

هدف از این پژوهش، بررسی اثر سطوح مختلف مواد نفتی در خاک بر نحوه رشد دو رقم بومی و غیر بومی برموداگرس به منظور توصیه جهت کاشت و ایجاد فضای سبز در مناطق آلوده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ به منظور بررسی اثر سطوح مختلف هیدروکربن‌های نفتی در خاک بر رشد دو گونه چمن برموداگرس بومی (*Cynodon spp.* cv ISF2) و غیر بومی (*Cynodon spp.* cv 3200W 18-4 از آمریکا) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اجرا شد.

قبل از شروع آزمایش، از خاک زراعی و لجن نفتی مورد استفاده نمونه‌برداری گردید و برخی از ویژگی‌های آن‌ها اندازه‌گیری شد. خاک مورد استفاده دارای بافت لوم سیلتی، EC=۲/۸ dS/m، pH=۷/۵ و ۱/۹۲ درصد ماده آلی بود. لجن نفتی مورد استفاده نیز دارای EC=۲/۷ dS/m، pH=۷/۹ و مقدار ۱۲ درصد ماده آلی و غلظت کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH: Total Petroleum Hydrocarbons) ۱۹۰ g/kg بود.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. متوسط حداقل و حداکثر دمای روزانه گلخانه در طول مدت آزمایش ۲۷-۳۳

میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرولیتر عصاره نمونه در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت این آنزیم (بر اساس واحد بر گرم وزن تر)، با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$CA = (\Delta OD * 1000 * (1/A * EC)) * (B * C) \quad [2]$$

در این رابطه، CA فعالیت آنزیم کاتالاز، ΔOD اختلاف جذب بین قرائت اول و قرائت آخر در زمان، A مقدار عصاره آنزیمی به کار رفته بر حسب میکرولیتر، EC ضریب خاموشی آنزیم (ضریب خاموشی کاتالاز: ۳۹/۴)، B مقدار بافر واکنش به کار رفته و C وزن نمونه گیاهی بود. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، ۲ میلی‌لیتر بافر واکنش اختصاصی SOD، ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات عمومی، ۳۳ میکرولیتر نیترو بلو ترازولیوم، ۳۳ میکرولیتر ریوفلاوین و ۵۰ میکرولیتر عصاره نمونه به کوئت اضافه گردید. اندازه‌گیری این آنزیم در طول موج ۵۷۰ نانومتر بدین صورت انجام شد که ابتدا بلافاصله بعد از اضافه کردن نمونه، قرائت اول صورت گرفت. سپس، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در زیر نور فلورسنت (مهمتایی معمولی) نگه‌داری شدند و سپس قرائت دوم صورت پذیرفت.

تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای نفتی، نوع گیاه و اثر متقابل تیمار و زمان در سطح احتمال ۱٪ بر صفت رنگ چمن‌ها معنی‌دار بود. همچنین، اثر تیمارهای نفتی و زمان در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل تیمار و گیاه در سطح احتمال ۵٪ بر میزان تراکم چمن‌ها معنی‌دار بود. اما اثر نوع گیاه بر میزان این صفت معنی‌دار نبود. همچنین، اثر متقابل نوع گیاه و تیمار آلودگی بر صفات رشد تجمعی، کلروفیل a، کلروفیل کل و پروکلین در سطح احتمال ۱٪ و بر صفت

۲۴ ساعت درون پتری‌دیش حاوی آب مقطر قرار گرفت و پس از آن وزن نمونه‌ها به عنوان وزن تورژسانس (TW) در نظر گرفته شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس، وزن حاصل از آن‌ها به عنوان وزن خشک (DW) منظور گردید. میزان محتوای نسبی آب (بر حسب درصد) از رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC = (FW - DW) / (TW - DW) * 100 \quad [1]$$

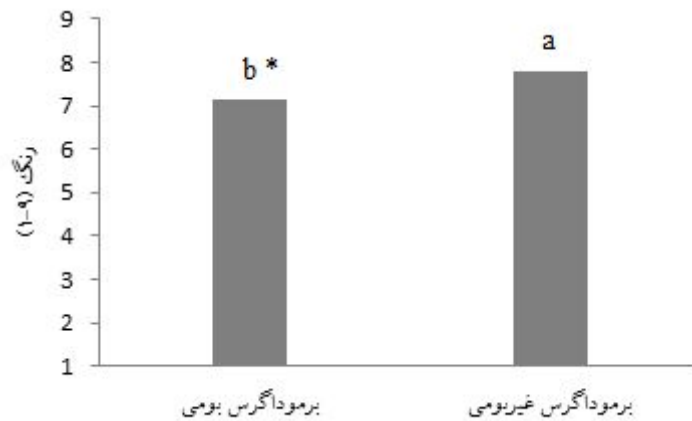
میزان کلروفیل گیاهان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-600A) به روش لیختن‌تالر (۲۴) توسط حلال استون ۱۰۰٪ اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری میزان پروکلین آزاد نمونه‌ها، مقدار ۱۰ میلی‌گرم برگ تازه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ سائیده، مخلوط حاصل را با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۲ صاف نموده و از معرف ناین‌هیدرین طبق روش بیتز و همکاران (۱۱) استفاده شد. در نهایت، میزان جذب فاز قرمز رنگ حاوی اسید آمینه پروکلین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت پروکلین هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از روش سایرام و همکاران (۳۷) با کمی تغییرات استفاده شد. بدین منظور، ۱/۰ گرم از نمونه گیاهی در داخل هاون چینی سرد شده با یخ با استفاده از نیتروژن مایع آسیاب گردید و به داخل ویال‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد و ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج (حاوی ۰/۴۶ میلی‌مول K_2HPO_4 ، ۰/۴۹ میلی‌مول KH_2PO_4 ، ۰/۱۹ میلی‌مول EDTA، ۰/۳۸ میلی‌مول Tris-HCl، ۲۰۰ میکرولیتر Triton×100، ۰/۰۰۵ میلی‌مول PVP و ۰/۰۲ میلی‌مول دی‌تیوتریتول) به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سلسیوس و ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. از این عصاره جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) استفاده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل ۱۲/۴۸ میلی‌مول K_2HPO_4 ، ۱۲/۴۹ میلی‌مول KH_2PO_4 ، ۴/۵

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل درصدهای مختلف مواد نفتی و زمان بر صفت رنگ

تیمار (درصد وزنی هیدروکربن های نفتی خاک)	رنگ (۱-۹)		
	روز ۷۰	روز ۱۴۰	روز ۲۱۰
L۱ (شاهد)	۷/۸۱c*	۸/۱۶ab	۸/۴۰a
L۲ (۲/۱)	۷/۶۵c	۷/۸۲c	۸/۰۸b
L۳ (۳/۸۷)	۷/۲۳d	۷/۳۱d	۷/۲۸d
L۴ (۱۲/۲۵)	۶/۸۸e	۶/۵۸f	۶/۲۳g

* در هر ردیف و ستون، میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین های هر فاکتور است.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر ساده نوع گیاه بر صفت رنگ. هیستوگرام های با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD هستند.

معنی داری کاهش یافت؛ اما همواره بهتر از حد مطلوب (۶) بود (جدول ۱). همچنین، رنگ برموداگرس غیر بومی به طور معنی داری بیشتر از برموداگرس بومی بود (شکل ۱).

تراکم

اثر متقابل تیمارهای آلودگی و نوع گیاه بر تراکم چمن های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان تراکم مربوط به برموداگرس غیر بومی رشد یافته در تیمار شاهد بود که تفاوت معنی داری با تراکم برموداگرس بومی در همان تیمار نداشت. کمترین میزان تراکم (۶/۴۵) متعلق به برموداگرس غیر بومی در تیمار L۴ بود. در مجموع، با افزایش میزان آلاینده های خاک،

محتوای نسبی آب در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بود. ولی اثر معنی داری بر صفت کلروفیل b و فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نداشت.

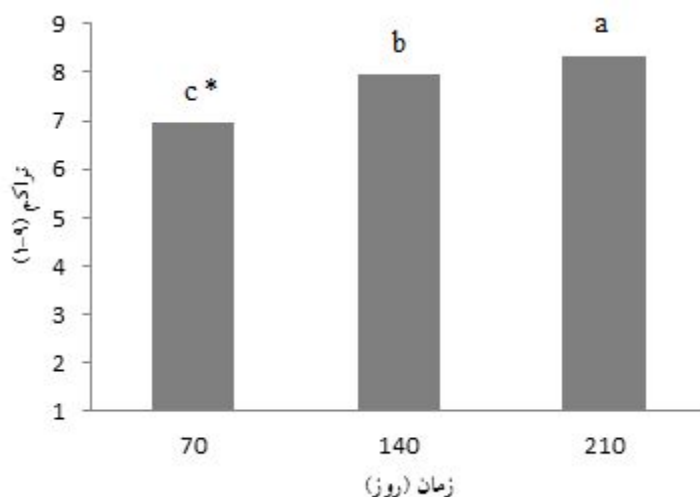
رنگ

اثر متقابل تیمارهای آلودگی (تیمارهای L۱ تا L۴) و زمان بر رنگ چمن های مورد مطالعه نشان داد که در تیمارهای L۱ و L۲، با گذشت زمان، چمن ها پررنگ تر شدند. اما در تیمار L۴، گذشت زمان سبب کم رنگ تر شدن چمن ها شد. در تیمار L۳، تفاوت معنی داری میان رنگ چمن ها در زمان های مختلف مشاهده نشد. همچنین، اثر تیمارهای آلودگی نشان داد که با افزایش میزان آلاینده های خاک، میزان رنگ چمن به طور

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل درصدهای مختلف مواد نفتی و گونه چمن بر صفت تراکم

تراکم (۱-۹)			تیمار (درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی خاک)
میانگین	برموداگرس غیر بومی	برموداگرس بومی	
۸/۴۶A	۸/۶۰a	۸/۳۲ab*	L۱ (شاهد)
۸/۰۳B	۷/۹۰cd	۸/۱۶bc	L۲ (۲/۱)
۷/۷۶B	۷/۸۴cd	۷/۶۸d	L۳ (۳/۸۷)
۶/۷۳C	۶/۴۵f	۷/۰۱e	L۴ (۱۲/۲۵)

* در هر ردیف و ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین‌های هر فاکتور است.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر ساده زمان بر صفت تراکم. هیستوگرام‌های با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD هستند.

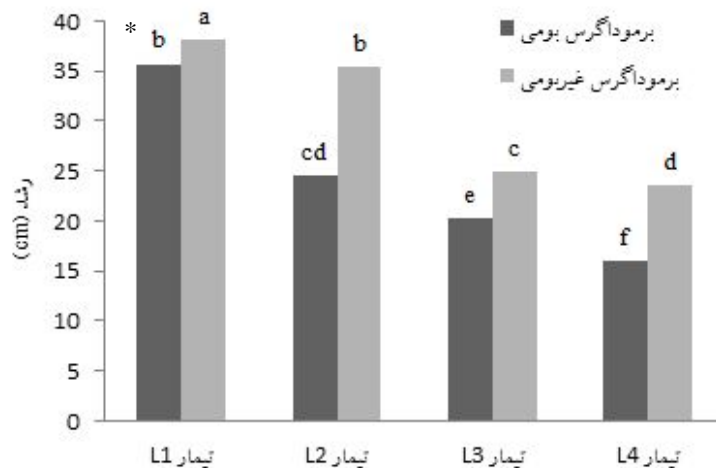
آلاینده‌های خاک سبب کاهش معنی‌دار در میزان رشد هر دو چمن شد. حضور ۲/۱ درصد هیدروکربن‌های نفتی در خاک سبب کاهش ۳۱/۱۲ درصدی رشد برموداگرس بومی نسبت به تیمار شاهد شد. در حالی که رشد برموداگرس غیر بومی را تنها ۷/۳۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (شکل ۳).

هیدروکربن‌ها به عنوان ترکیبات ممانعت‌کننده از رشد گیاهان شناخته شده‌اند. به نظر می‌رسد اصلی‌ترین عوامل ممانعت‌کننده، سمیت ترکیبات با وزن مولکولی کم و ویژگی آبگریزی هیدروکربن‌هاست که با کاهش رطوبت ظرفیت مزرعه و محتوای مواد غذایی خاک، توانایی گیاهان را در جذب

میزان تراکم چمن‌ها کاهش یافت؛ اما به کمتر از حد مطلوب (۶) نرسید (جدول ۲). اثر زمان بر میزان تراکم نشان داد که گذشت زمان سبب افزایش معنی‌دار در میزان این صفت شد (شکل ۲).

رشد

نتایج نشان داد که در کلیه تیمارها، بین رشد دو گونه برموداگرس تفاوت معنی‌دار وجود داشت و همواره میزان رشد برموداگرس غیر بومی بیشتر بود. همچنین، افزایش در میزان



شکل ۳. مقایسه میانگین میزان رشد گیاهان مورد مطالعه در تیمارهای L1 (شاهد: خاک غیرآلوده)، L2 (خاک حاوی ۲/۱ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک)، L3 (خاک حاوی ۳/۸۷ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک) و L4 (خاک حاوی ۱۲/۲۵ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک). هیستوگرام‌های با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD هستند.

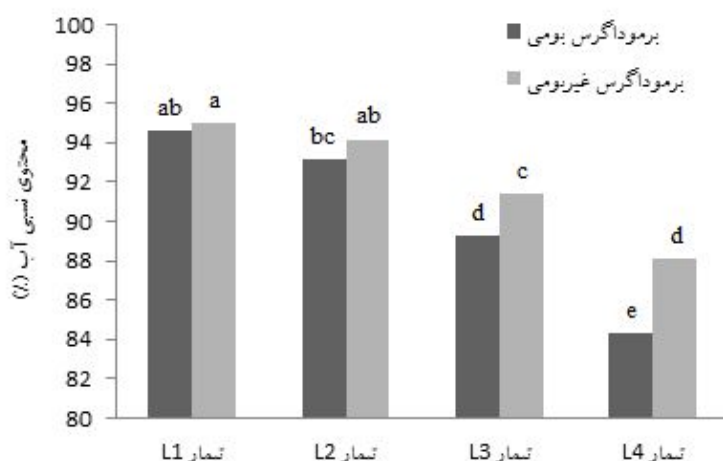
کیلوگرم هیدروکربن‌های نفتی، ارتفاع گیاهان را از همان ماه اول به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (۲۰).

محتوای نسبی آب

شکل ۴ اثر میزان لجن نفتی موجود در خاک بر محتوای نسبی آب هر دو رقم برموداگرس را نشان می‌دهد. این شکل نشان‌دهنده وجود یک همبستگی منفی میان محتوای نسبی آب گیاهان و میزان مواد نفتی موجود در خاک می‌باشد، به طوری که با افزایش میزان هیدروکربن‌های نفتی خاک از ۲/۱ درصد به ۳/۸۷ و ۱۲/۲۵ درصد، محتوای نسبی آب به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما تفاوت معنی‌داری میان محتوای نسبی آب گیاهان در تیمارهای L1 (شاهد) و L2 مشاهده نشد. محتوای نسبی آب برموداگرس غیر بومی در همه تیمارها، بخصوص تیمار با بیشترین میزان آلودگی (تیمار L4)، بیش از برموداگرس بومی بود (شکل ۴) که این امر نشان‌دهنده توانایی بیشتر این گونه در حفظ محتوای آب در بافت‌های گیاه است.

تحقیقات لی و همکاران (۲۳) روی گیاه برنج بیانگر کاهش محتوای آب گیاه در تمام سطوح آلودگی در مقایسه با تیمار

آب محدود می‌کند (۸). ژانگ و همکاران (۴۳) در بررسی توان گیاه *Scirpus triquetar* جهت گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیدروکربن پیرین دریافتند که در انتهای دوره ۸۰ روزه آزمایش، ارتفاع گیاه در تیمار حاوی آلودگی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد (خاک غیر آلوده) بود. همچنین، رشد گیاه در خاک آلوده کندتر از تیمار شاهد صورت گرفت. این محققین بیان کردند که کاهش در رشد و زیست‌توده تولیدی گیاهان رشد یافته در خاک‌های آلوده به سبب سمیت ذاتی هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای است. اثرهای سمی آلاینده‌ها، شکل ریشه را تغییر می‌دهند. این تغییر مستقیماً جذب آب و عناصر غذایی و در نتیجه رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۳). ارتفاع گیاهان لاله عباسی (*Mirabilis jalapa*) رشد یافته در خاک‌های حاوی ۵ گرم بر کیلوگرم مواد نفتی، تفاوت معنی‌داری با گیاهان تیمار شاهد (خاک غیر آلوده) نداشت. اما حضور ۱۰ و ۲۰ گرم بر کیلوگرم مواد نفتی در خاک، ارتفاع و زیست‌توده تولیدی گیاه را به طور معنی‌داری کاهش داد (۳۲). اندازه‌گیری طول ساقه گیاه *Mimosa pilulifera*، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از کاشت گیاهان نشان داد که حضور ۱۳/۶۵ گرم بر



شکل ۴. مقایسه میانگین محتوای نسبی آب گیاهان مورد مطالعه در تیمارهای L۱ (شاهد: خاک غیرآلوده)، L۲ (خاک حاوی ۲/۱ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک)، L۳ (خاک حاوی ۳/۸۷ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک) و L۴ (خاک حاوی ۱۲/۲۵ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک). هیستوگرام‌های با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD هستند.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل درصدهای مختلف مواد نفتی و گونه چمن بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل

تیمار (درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی خاک)	کلروفیل a (mg/g FW)		کلروفیل b (mg/g FW)		کلروفیل کل (mg/g FW)	
	برموداگرس بومی	برموداگرس غیر بومی	برموداگرس بومی	برموداگرس غیر بومی	برموداگرس بومی	برموداگرس غیر بومی
L۱ (شاهد)	۱/۹۶b*	۲/۲۱a	۰/۸۹a	۰/۹۴a	۰/۹۱A	۳/۱۵a
L۲ (۲/۱)	۱/۸۴d	۲/۲۳a	۰/۷۳bc	۰/۷۸b	۰/۷۶B	۳/۰۲b
L۳ (۳/۸۷)	۱/۴۸f	۱/۸۸c	۰/۵۵d	۰/۶۸c	۰/۶۲C	۲/۵۷d
L۴ (۱۲/۲۵)	۱/۲۵g	۱/۵۵e	۰/۴۴e	۰/۵۲d	۰/۴۸D	۲/۰۷e
میانگین	۱/۶۳B	۱/۹۷A	۰/۶۵B	۰/۷۳A	---	۲/۷۰A

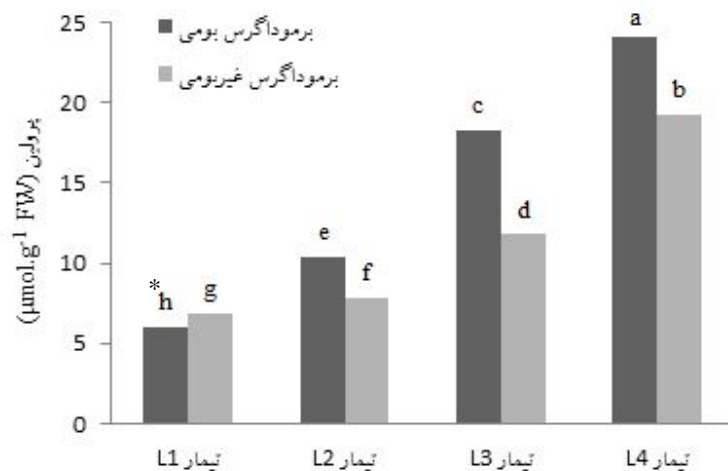
* در هر ردیف و ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین‌های هر فاکتور است.

هدایت روزنه‌ای و در نتیجه تعرق و فتوسنتز بیشتر گیاه گردد (۲۷).

کلروفیل

مقایسه میانگین اثر تیمارهای آلودگی و نوع گیاه بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در کلیه تیمارها، میزان کلروفیل

شاهد بود. نتایج این تحقیق وجود همبستگی منفی میان محتوای آب در بافت برنج و سطوح تنش نفتی را نشان داد. محتوای نسبی آب برگ پارامتری است که به طور گسترده برای تعیین وضعیت آب درونی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای گیاهان مهم است که بتوانند تحت شرایط تنش، محتوای آب کافی در بافت‌های خود حفظ کنند (۲۳). محتوای نسبی آب بیشتر می‌تواند موجب حفظ



شکل ۵. مقایسه میانگین میزان پرولین گیاهان مورد مطالعه در تیمارهای L1 (شاهد: خاک غیرآلوده)، L2 (خاک حاوی ۲/۱ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک)، L3 (خاک حاوی ۳/۸۷ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک) و L4 (خاک حاوی ۱۲/۲۵ درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی در خاک). هیستوگرام‌های با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD هستند.

منجر به کاهش ۲۹ درصدی در محتوای کلروفیل شد. همچنین، کومروا و همکاران (۲۱) به کاهش محتوای کلروفیل گیاهان خودفرنگی تحت تنش فلوتورانتین اشاره کردند.

تنش می‌تواند از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن، سبب تنش اکسیداتیو شود. گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند سبب پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه آسیب به غشای سلول و دستگاه فتوسنتز شده و منجر به تخریب کلروفیل شوند (۳۹).

پرولین

نتایج نشان داد که با افزایش میزان آلاینده‌های خاک، پرولین تولیدی گیاهان به طور معنی‌داری افزایش یافت، به طوری که حضور ۲/۱ درصد هیدروکربن‌های نفتی در خاک، میزان پرولین برموداگرس بومی و غیر بومی را به ترتیب ۷۳/۵۷ و ۱۳/۳۷ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. همچنین، در کلیه تیمارها، بجز تیمار شاهد (تیمارهای L2، L3 و L4)، میزان پرولین تولیدی در برموداگرس بومی به ترتیب ۳۳/۰۴، ۵۵ و ۲۵/۸۲ درصد بیشتر از برموداگرس غیر بومی بود (شکل ۵).

سانگ و همکاران (۳۸) نشان دادند که وجود هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای در محیط کشت گیاه،

a و کلروفیل کل برموداگرس غیر بومی به‌طور معنی‌داری بیشتر از برموداگرس بومی بود. بیشترین میزان کلروفیل a (۲/۲۳ mg/g FW) در تیمار L2 برموداگرس غیر بومی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با میزان کلروفیل همین گیاه در تیمار شاهد (۲/۲۱ mg/g FW) نداشت. بیشترین میزان کلروفیل کل، با داشتن اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها، در تیمار شاهد برموداگرس غیر بومی (۳/۱۵ mg/g FW) و کمترین آن در تیمار L4 برموداگرس بومی (۱/۷۰ mg/g FW) به دست آمد. حضور ۲/۱ درصد هیدروکربن‌های نفتی در خاک، میزان کلروفیل کل برموداگرس بومی و غیر بومی را ۹/۷۹ و ۴/۱۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (جدول ۳).

گزارش‌هایی مبنی بر کاهش میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش نفتی وجود دارد. لیو و همکاران (۲۵) نشان دادند که هیدروکربن فنانتین‌ترین محتوای کلروفیل گیاه *Arabidopsis thaliana* را کاهش داد. مطالعات انجام شده توسط باروتیا و همکاران (۱۰) نشان داد که میزان کلروفیل گیاه شبدر سفید (*Trifolium repens*) پس از ۲ ماه رشد در خاک‌های آلوده به مواد نفتی، به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. همچنین، در بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه برنج به دو هیدروکربن فنانتین‌ترین و پیرین، لی و همکاران (۲۳) مشاهده کردند که سطح زیاد آلودگی (۴۰۰ mg/kg)

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر ساده درصدهای مختلف مواد نفتی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

تیمار (درصد وزنی هیدروکربن‌های نفتی خاک)	L1 (شاهد)	L2 (۲/۱)	L3 (۳/۸۷)	L4 (۱۲/۲۵)
کاتالاز (U/g FW)	۲۵۷۱/۷b*	۳۱۹۸/۳a	۳۱۵۷/۰a	۲۱۶۰/۲c

* در هر ردیف، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر ساده نوع گیاه بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز

گیاه	کاتالاز (U/g FW)	سوپراکسید دیسموتاز (U/g FW)
برموداگرس بومی	۲۴۰۴/۵b	۱۸۹۸/۳b
برموداگرس غیر بومی	۳۱۳۹/۱a	۲۴۲۶/۳a

* در هر ردیف، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

داد. اما فعالیت این آنزیم در تیمار حاوی ۱۲/۲۵ درصد هیدروکربن‌های نفتی، ۱۶٪ کمتر از تیمار شاهد بود (جدول ۴). همچنین، مشخص شد که میزان فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در برموداگرس غیر بومی به‌طور معنی‌داری بیشتر از برموداگرس بومی بود (جدول ۵).

تنش‌های زنده و غیر زنده سبب افزایش تمرکز رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل در گیاه و آسیب به سلول‌های گیاهی می‌شوند (۱۵). گیاهان برای مقابله با خسارت ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن حاصل از تنش، به یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مجهزند که به گیاه کمک می‌کند در شرایط تنش به رشد خود ادامه دهد (۱۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بیشترین سهم را برای حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان بر عهده دارند (۱۶). هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) تعادل بین تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را برهم می‌زنند (۳۰). لیو و همکاران (۲۵) گزارش کردند که ترکیبات PAHs سبب تنش اکسیداتیو در گیاه *Arabidopsis thaliana* شده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

سبب افزایش معنی‌دار میزان پرولین برگ گیاه *Kandelia candel* نسبت به تیمار شاهد (تیمار غیرآلوده) شد. همچنین، در بررسی اثر هیدروکربن پیرین برگ گیاه *Bruguiera gymnorhiza* دیده شد که حضور این آلاینده در محیط کشت سبب افزایش میزان پرولین برگ گیاه نسبت به تیمار شاهد گردید (۳۷). گیاهان باقلا (*Vicia faba*) رشد یافته در خاک‌های آلوده به هیدروکربن نیز سطوح زیاد پرولین را در خود تجمع دادند (۲۶). پرولین را می‌توان به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی دانست که باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. همچنین، پرولین مانند یک آنتی‌اکسیدان قوی این توانایی را دارد که از مرگ یاخته‌ها در برابر تنش‌های محیطی جلوگیری کند (۱۴).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

بررسی اثر تیمارهای مختلف بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که افزایش میزان آلاینده‌های خاک، ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش میزان فعالیت این آنزیم شد. حضور ۲/۱ و ۳/۸۷ درصد هیدروکربن‌های نفتی در خاک، فعالیت آنزیم کاتالاز را به ترتیب ۲۴/۳۶ و ۲۲/۷۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش

به هیدروکربن‌های نفتی می‌توانند گزینه‌های مناسبی جهت استفاده در مکان‌های آلوده باشند. البته کیفیت ظاهری (تراکم و رنگ)، وضعیت رشدی و همچنین ویژگی‌های فیزیولوژیک برموداگرس غیر بومی در خاک‌های آلوده همواره بهتر از برموداگرس بومی بود. لذا، این گیاه جهت استفاده در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی برتری دارد.

سیاسگزاری

بدین وسیله از شرکت ملی پالایش و پخش فرآورده‌های نفتی ایران که حامی و پشتیبان این پروژه پژوهشی بوده است صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

را در گیاه افزایش داد. همچنین، نتایج به دست آمده از پژوهش سانگ و همکاران (۳۷) روی سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه *Bruguiera gymnorhiza* نشان داد که تنش حاصل از وجود مقادیر زیاد هیدروکربن پیرین در محیط کشت گیاه سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در برگ گیاه نسبت به تیمار شاهد گردید. افزایش میزان ترکیبات PAHs محیط کشت گیاه *Kandelia candel* سبب افزایش و سپس کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در برگ گیاه نسبت به تیمار شاهد شد (۳۸).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که هر دو گونه برموداگرس با داشتن میزان تراکم و رنگ مناسب (بیش از حد مطلوب) در خاک‌های آلوده

منابع مورد استفاده

۱. ابراهیمی، س.، ج. شایگان، م. ج. ملکوتی و ع. اکبری. ۱۳۹۰. ارزیابی زیست‌محیطی و سنجش برخی شاخص‌های مهم آلودگی نفتی در اراضی محدوده پالایشگاه گاز سرخون بندرعباس. محیط شناسی ۵۷: ۹-۱۸.
۲. اعتمادی، ن. و ح. فولادی. ۱۳۸۸. مدیریت چمن در مناطق معتدله (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی صنعتی اصفهان.
۳. بسالت‌پور، ا. ۱۳۸۶. زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی به روش Phytoremediation. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۴. شادی‌زاده، س. ر. و م. زویداویان‌پور. ۱۳۸۹. نقش رس به عنوان یک مانع طبیعی زمین‌شناسی در کنترل آلودگی نفتی در پالایشگاه آبادان. علوم زمین ۷۶: ۱۷۷-۱۸۶.
۵. شریفی حسینی، س.، م. چرم، ح. معتمدی و ا. کامرانفر. ۱۳۸۹. اثرات لجن فاضلاب بر زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به نفت خام. آب و فاضلاب ۲: ۳۷-۴۵.
۶. وزوایی، ع. ۱۳۷۳. سیستماتیک گیاهی. انتشارات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.
7. Abedi-Koupai, J., R. Ezzatian, M. Vossoughi-Shavari, S. Yaghmaei and M. Borghei. 2007. The effects of microbial population on phytoremediation of petroleum contaminated soils using Tall Fescue. Int. J. Agric. Biol. 9: 242-246.
8. Afzal, M., S. Yousaf, T.G. Reichenauer, M. Kuffner and A. Sessitsch. 2011. Soil type affects plant colonization, activity and catabolic gene expression of inoculated bacterial strains during phytoremediation of diesel. J. Hazard. Mater. 186: 1568-1575.
9. Arbabi, M., S. Nasserri and A. Chimeizie. 2009. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in petroleum contaminated soils. Iran. J. Chem. Chem. Eng. 28: 53-59.
10. Barrutia, O., C. Garbisu, L. Epelde, M.C. Sampedro, M.A. Goicolea and J.M. Becerril. 2011. Plant tolerance to diesel minimizes its impact on soil microbial characteristics during rhizoremediation of diesel-contaminated soils. Sci. Total Environ. 409: 4087-4093.
11. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

12. Beard, J.B. 1973. Turfgrass: Science and Culture. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.
13. Blokhina, O., E. Virolainen and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.* 91: 179-194.
14. Chen, C. and M.B. Dickman. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletrichum trifolii*. *PNAS* 102: 3459-3464.
15. Foyer, C.H., M. Lelandais and K.J. Kunert. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.* 92: 696-717.
16. Fu, J. and B. Huang. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 45: 105-114.
17. Gaskin, S.E., K. Soole and R.H. Bentham. 2008. Screening of Australian native grasses for rhizoremediation of aliphatic hydrocarbon-contaminated soil. *Int. J. Phytoremed.* 10: 378-389.
18. Gerhardt, K.E., X.D. Huang, B.R. Glick and B.M. Greenberg. 2009. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Sci.* 176: 20-30.
19. Ghoulam, C., A. Foursy and K. Fares. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 47: 39-50.
20. Inckot, R.C., G. de Oliveira Santos, L.A. de Souza and C. Bona. 2011. Germination and development of *Mimosa pilulifera* in petroleum-contaminated soil and bioremediated soil. *Flora* 206: 261-266.
21. Kummerova, M., J. Krulova, S. Zezulka and J. Triska. 2006. Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence. *Chemosphere* 65: 489-496.
22. Lee, S.H., W.S. Lee, C.H. Lee and J.G. Kim. 2008. Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. *J. Hazard. Mater.* 153: 892-898.
23. Li, J.H., Y. Gao, S.C. Wu, K.C. Cheung, X.R. Wang and M.H. Wong. 2008. Physiological and biochemical responses of rice (*Oryza Sativa* L.) to phenanthrene and pyrene. *Int. J. Phytoremed.* 10: 106-118.
24. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. *Met. Enzymol.* 148: 350-382.
25. Liu, H., D. Weisman, Y.B. Ye, B. Cui, Y.H. Huang, A. Colon-Carmona and Z.H. Wang. 2009. An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.* 176: 375-382.
26. Malallah, G., M. Afzal, S. Gulshan, D. Abraham, M. Kurian and M.S. Dhami. 1996. *Vicia faba* as a bioindicator of oil pollution. *Environ. Pollut.* 92: 213-217.
27. Medrano, H., J.M. Escalona, J. Bota, J. Gulias and J. Flexas. 2002. Regulation of photosynthesis of C₃ plant in response to progressive drought: Stomatal conductance as reference parameter. *Ann. Bot.* 595: 889-905.
28. Mehrasbi, M.R., B. Haghighi, M. Shariat, S. Naseri and K. Naddafi. 2003. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. *Iran. J. Publ. Health* 32: 28-32.
29. Merkl, N., R. Schultze-Kraft and C. Infante. 2005. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water, Air, Soil Pollut.* 165: 195-209.
30. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-410.
31. Morris, K. N. 2002. A guide to NTEP turfgrass rating. A Publication of the National Turfgrass Evaluation Program, Beltsville, MD. NTEP 11: 30-39.
32. Peng, S., Q. Zhou, Z. Cai and Z. Zhang. 2009. Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis jalapa* L. in a greenhouse plot experiment. *J. Hazard. Mater.* 168: 1490-1496.
33. Razmjoo, K. and Z. Adavi. 2012. Assessment of bermudagrass cultivars for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Int. J. Phytoremed.* 14: 14-23.
34. Robson, D.B. 2003. Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soil using plants adapted to the western Canadian climate. PhD Thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
35. Robson, D.B., J.D. Knight, R.E. Farrell and J.J. Germida. 2003. Ability of cold-tolerant plants to grow in hydrocarbon-contaminated soil. *Int. J. Phytoremed.* 5: 105-123.
36. Sairam, R.K., K. Veerabhadra Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163: 1037-1064.
37. Song, H., Y.S. Wang, C.C. Sun, Y.T. Wang, Y.L. Peng and H. Cheng. 2012. Effects of pyrene on antioxidant systems and lipid peroxidation level in mangrove plants, *Bruguiera gymnorrhiza*. *Ecotoxicol.* 21: 1625-1632.
38. Song, H., Y.S. Wang, C.C. Sun, M.L. Wu, Y.L. Peng, C. Deng and Q.P. Li. 2011. Effects of polycyclic hydrocarbons exposure on antioxidant system activities and proline content in *Kandeliacandel*. *Int. J. Ocean. Hydrobiol.* 40: 9-18.
39. Wang, Z. and B. Huang. 2004. Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Sci.* 44: 1729-1736.
40. Wenzel, W.W. 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation)

- of soils. *Plant Soil* 321: 385-408.
41. White, P.M., D.C. Wolf, G.J. Thoma and C.M. Reynolds. 2006. Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil-contaminated soil. *Water, Air, Soil Pollut.* 169: 207-220.
 42. Willumsen, P.A. 1998. Surfactant-enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. PhD Thesis, Dept. Environ. Sci. and Eng., Technical University of Denmark, Denmark.
 43. Zhang, X., X. Liu, S. Liu, F. Liu, L. Chen, G. Xu, C. Zhong, P. Su and Z. Cao. 2011. Responses of *Scirpus triquetus*, soil enzymes and microbial community during phytoremediation of pyrene contaminated soil in simulated wetland. *J. Hazard. Mater.* 193: 45-51.
 44. Zhang, Z., Q. Zhou, S. Peng and Z. Cai. 2010. Remediation of petroleum contaminated soils by joint action of *Pharbitis nil* L. and its microbial community. *Sci. Total Environ.* 408: 5600-5605.