

ارزیابی جوانه‌زنی، مقدار کلروفیل و رشد گیاه اقاچیا (*Rubinia pseudoacacia* L.) در پاسخ به آلودگی نفت خام

مهری عسکری مهرآبادی*، میترا نوری، فریبا امینی و فاطمه بیگی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران

چکیده

در کشورهای تولیدکننده نفت، آلودگی خاک به نفت خام، یکی از مهمترین آلودگی‌های زیست-محیطی محسوب می‌شود. آلوده شدن خاک به نفت خام به هنگام استخراج، انتقال و پالایش آن رخ می‌دهد. آلودگی سبب آسیب به محیط، جمعیت گیاهی و جانوری می‌شود. در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف نفت خام (۰، ۰.۲، ۰.۴، ۰.۶، ۰.۸ و ۱.۰٪ وزنی/وزنی) بر جوانه‌زنی، رشد و مقدار کلروفیل اقاچیا بررسی شد. نتایج کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی دانه و طول ریشه‌چه را متناسب با افزایش غلظت نفت خام نشان دادند. شاخص‌های رشد مانند ارتفاع گیاه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی گیاه اقاچیا در خاک آلوده به نفت خام (۰، ۰.۱، ۰.۲، ۰.۳، ۰.۴٪ حجمی / وزنی) روند کاهشی را نشان دادند. در غلظت‌های بالاتر از ۰.۴٪، گیاهان هیچ‌گونه رشدی نداشتند. بیشترین سطح برگ (۵۰۳ سانتی‌مترمربع) در شاهد و کمترین سطح برگ (۱۳ سانتی‌مترمربع) در تیمار ۰.۴٪ در پایان هفته دوازدهم اندازه‌گیری شد. با افزایش آلودگی تا ۰.۴٪ مقدار کلروفیل b کاهش داشت. بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار ۰.۲٪ اندازه‌گیری گردید. بنابراین، نفت خام می‌تواند سبب القای تنش‌های محیطی در گیاه اقاچیا گردد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی نفت خام، اقاچیا، رشد و جوانه‌زنی گیاه، کلروفیل

مقدمه

براکو سیستم منطقه، با گذشت زمان و ورود به چرخه غذایی، به جوامع انسانی نیز راه می‌یابند و به این ترتیب، سلامت انسان، گیاهان، جانوران، رودخانه‌ها، آب‌های زیرزمینی و تولیدات کشاورزی (Anigboro and Tonukari, 2008) را تهدید می‌کنند. از جمله آلاینده‌های نفتی می‌توان به هیدروکربن‌های نفت خام، هیدروکربن‌های

نفت خام منبع انرژی عمده‌ای در رشد اقتصادی و اجتماعی یک کشور محسوب می‌شود (Peng et al., 2009). آلودگی ناشی از فعالیت نفتی در یک کشور تولیدکننده نفت اجتناب‌ناپذیر است. آلودگی‌های نفتی، سمی، جهش‌زا و سرطان‌زا هستند و علاوه بر تأثیر گسترده

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی بذر و نفت خام: بذره‌های سالم، سفت، دارای مغز و بدون آفت اقاچیا از پارک کلاله شهر سنجان، واقع در استان مرکزی جمع‌آوری شد. نفت خام از پالایشگاه اراک تهیه شد. بذرها توسط اتانول ۷۰٪ به مدت ۲ دقیقه و سپس با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و سپس ۵ بار با آب مقطر شستشو داده شدند (Wang and Oyaizu, 2009). اسکاریفیکاسیون (خراش دادن) بذرها با نوک اسکالپل در ناحیه‌ای غیر از ناف انجام شد (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

کشت بذر اقاچیا در غلظت‌های مختلف نفت خام و

تعیین درصد جوانه‌زنی: درون ۱۰ پتری‌دیش کمی پنبه استریل و روی آن کاغذ صافی استریل قرار داده و در هر پتری‌دیش ۱۰ عدد بذر استریل خراش داده شده با فاصله مناسب قرار داده شد. سپس تیمارهای مختلف ۰٪، ۲٪، ۴٪، ۶٪، ۸٪ و ۱۰٪ (وزنی/وزنی) نفت خام تهیه شدند. تیمار ۰٪ که فاقد ترکیب نفتی است، به عنوان شاهد انتخاب گردید. سپس پتری‌دیش‌ها در تاریکی در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتیگراد برای جوانه‌زنی قرار داده شد (Nasir et al., 2005). پس از دو روز، تعداد بذره‌های جوانه‌زده و طول ریشه‌چه اندازه‌گیری شد. آزمایش در ۳ تکرار و در یک طرح کاملاً تصادفی انجام گردید.

کشت گلدانی بذره‌های غیر آلوده اقاچیا در خاک

آلوده به نفت خام و اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: بذره‌های اقاچیا ضدعفونی سطحی و خراش داده شده، درون پتری‌دیش‌های محتوی کاغذ صافی استریل با فواصل منظم، در هر پتری‌دیش ۱۰ بذر، قرار داده شدند. برای تقویت بذرها برای جوانه‌زنی، به هر پتری‌دیش ۱۰ میلی‌لیتر محلول نیترات پتاسیم ۲٪ افزوده و درب پتری‌دیش‌ها بسته

پلی‌سیکلک آروماتیک، هیدروکربن‌های هالوژنه، آفت‌کش‌ها، حلال‌ها و فلزات سنگین موجود در نفت خام اشاره کرد (Greenberg et al., 2007). تأثیرات فیزیکی نفت بر روی گیاهان با پوشاندن قسمت‌های هوایی گیاه، سدی در برابر جذب اشعه‌های مورد نیاز فتوسنتز ایجاد می‌کند. همچنین، ضمن پوشاندن سطح خاک، عدم تهویه کامل خاک را نیز سبب می‌شود (Anigboro and Tonukari, 2008). آثار شیمیایی ناشی از عملکرد نفت و ترکیبات آن، مثل فلزات سنگین، هیدروکربن‌های پلی‌سیکلک آروماتیک است که یک اختلال تدریجی در متابولیسم و رشد و نمو گیاه ایجاد می‌کند (Meudec et al., 2007). نفت خام باعث کاهش شاخص‌های رشد در گیاه، برای مثال ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، زرد شدن برگ و مرگ سلول‌های برگ، وزن خشک و تر گیاه، کاهش زیست‌توده ریشه (Omosun et al., 2008)، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی (Malallah et al., 1998) و کندسازی جذب مواد غذایی می‌شود (Rosso et al., 2005). همچنین، بخش‌هایی از نفت خام می‌تواند غشای بیولوژیک را حل کرده، باعث از هم گسیختن ریشه گیاه شود (Maila and Cloete, 2002). در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر شاخص‌های رشد گیاه اقاچیا (*Rubinia pseudoacacia* L.) که یک گیاه زینتی متعلق به خانواده Fabaceae از خانواده‌های گیاهی مقاوم به آلاینده‌های نفتی است (Anoliefo et al., 2006) بررسی شد تا بقا و مقاومت این گیاه در خاک آلوده به نفت خام و سپس ارزیابی امکان استفاده از آن به عنوان یک گیاه زینتی در پالایش آلودگی‌های مختلف نفت خام (شامل هیدروکربن‌های اشباع و آروماتیک نفت خام و فلزات سنگین موجود در نفت خام) بررسی شود.

شد. وزن خشک ریشه (Root Dry Weight, RDW)، ساقه (Stem Dry Weight, StDW) و برگ (Leaf Dry Weight, LDW) با خشک کردن نمونه‌ها در 75°C به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. سنجش کلروفیل‌ها طبق روش Clementina و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

الف- درصد جوانه‌زنی و حداکثر طول ریشه‌چه در گیاهک‌های دو روزه

نتایج آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان می‌داد که اثر غلظت‌های مختلف نفت خام بر درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه در سطح ۵٪ معنی‌دار است. با افزایش غلظت نفت خام (جدول ۲) درصد جوانه‌زنی و میانگین حداکثر طول ریشه‌چه بذرهاى جوانه‌زده اقاچیا کاهش یافته، بین گیاهان شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در شاهد به میزان ۸۰٪ و کم‌ترین در تیمار ۱۰٪ نفت‌خام به میزان ۱۳/۳٪ بود. بیشترین و کمترین طول ریشه‌چه در شاهد و تیمار ۱۰٪ به ترتیب ۲/۶ و ۰/۳ سانتی‌متر بود؛ یعنی ۸۶/۶۶٪ کاهش در تیمار ۱۰٪ نسبت به شاهد مشاهده گردید.

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف نفت‌خام (۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱۰٪ وزنی/وزنی) بر درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه گیاه اقاچیا؛ ns معنی‌دار نیست، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ** معنی‌دار در سطح ۱٪

منابع تغییر	درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه
اثر نفت‌خام	۷/۰۷۳*	۳/۰۱*

شد و سپس در شرایط محیط 25°C در تاریکی جهت جوانه‌زنی قرار گرفتند. پس از دو روز دانه‌رُست‌های دو روزه غیرآلوده به طور تصادفی در عمق ۲ سانتی‌متری خاک، درون گلدان‌های شاهد و گلدان‌های محتوی خاک آلوده به نفت‌خام در غلظت ۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪، ۴٪، ۵٪، ۶٪، ۷٪ و ۸٪ (حجمی/وزنی) انتقال یافتند. درون گلدان‌ها از پرلیت و خاک زراعی استریل به نسبت ۱:۱ (حجمی/حجمی) پر شد. بافت خاک مورد استفاده لومی رسی با $\text{pH}=7/3$ بود. درصد کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم در دسترس خاک به ترتیب ۰/۲٪، ۰/۲٪، ۵۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm اندازه‌گیری شد. گلدان‌ها با خاک‌های آلوده به غلظت‌های ذکر شده پُر شدند. گلدان‌های شاهد از همان خاک بدون افزودن نفت‌خام پر شدند. درون هر گلدان ۱۰ گیاهک اقاچیاى دو روزه غیرآلوده کشت شد. پس از پوشاندن روی دانه‌رست‌ها توسط خاک همان گلدان، آبیاری با ۲۵۰ mL محلول هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) انجام شد و گلدان‌ها در شرایط محیط در درجه حرارت 25°C در شب و 28°C در روز و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی/۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. آبیاری هر هفته به میزان ۲۵۰ mL محلول نیمه هوگلند صورت گرفت. طرح آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی و در ۳ تکرار در نظر گرفته شد. هر ۱۵ روز، شاخص‌های رشد مانند طول بخش هوایی، تعداد برگ و برگچه و سطح برگ اندازه‌گیری شد. در پایان ۳ ماه، برداشت نهایی انجام شد. عمق ریشه (Root Length, RL)، وزن تر بخش زیرزمینی (Root Fresh Weight, RFW) و هوایی (Shoot Fresh Weight, ShFW) (شامل ساقه و برگ)، وزن تر برگ (Leaf Fresh Weight, LFW) و وزن تر ساقه (Stem Fresh Weight, StFw) اندازه‌گیری

جدول ۲- میانگین درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه بذرهاى جوانه‌زده افاقیا پس از دو روز در غلظت‌های مختلف نفت خام (۰، ۰.۲، ۰.۴، ۰.۶، ۰.۸ و ۱.۰٪ وزنی/وزنی) \pm انحراف معیار؛ حروف یکسان عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها ($p \leq 0/05$) مطابق آزمون دانکن و برای کل جدول نشان می‌دهد. هر رقم میانگین ۳ تکرار است.

تیمار						شاخص مورد سنجش
۱.۰٪	۰.۸٪	۰.۶٪	۰.۴٪	۰.۲٪	شاهد	
۱۳/۳۳ ^a	۳۶/۶۷ ^{ab}	۴۶/۶۷ ^{bc}	۶۳/۳۳ ^{Bcd}	۶۶/۶۷ ^{cd}	۸۰ ^d	درصد جوانه‌زنی
$\pm ۳/۳۳$	$\pm ۱۲/۰۲$	$\pm ۶/۶۷$	$\pm ۱۳/۳۳$	$\pm ۸/۸۲$	$\pm ۵/۷۷$	
۰/۰۳ ^a	۱/۱۶ ^{ab}	۱/۵۷ ^{ab}	۱/۵۷ ^{ab}	۲/۳۸ ^b	۲/۶ ^b	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)
$\pm ۰/۰۲$	$\pm ۰/۲۶$	$\pm ۰/۹۸$	$\pm ۰/۱$	$\pm ۰/۵۱$	$\pm ۰/۶۷$	

از ۱۵ روز اول شروع شد، در حالی که سایر تیمارها نسبت به شاهد یک فاز تأخیر رشد داشتند. با آنکه در تیمار ۱٪ نسبت به شاهد، تأخیر شروع رشد نمایی مشاهده گردید و از روز ۴۵ به بعد روند رشد نمایی شد، ولی در دوره‌های بعد، شدت رشد گیاهان تیمار ۱٪ نسبت به شاهد افزایش بیشتری را نشان داد. برای مثال، شدت رشد گیاه (Crop Growth Rate, CGR) در فاصله زمانی ۳۰ تا ۴۵ روز در تیمار ۱٪ و شاهد به ترتیب ۰/۰۶ و ۰/۵۰ سانتی‌متر در روز بود، در حالی که در فاصله زمانی ۶۰ تا ۷۵ به ترتیب ۰/۷۶ و ۰/۲۰ سانتی‌متر در روز بود؛ یعنی در ابتدای دوره، شاهد رشد بیشتری نسبت به تیمار ۱٪ داشته، ولی پس از گذشت یک دوره زمانی ۴۵ روزه شدت رشد تیمار ۱٪ نسبت به شاهد افزایش داشته است.

ب- نتایج اثر نفت خام بر ارتفاع، تعداد برگچه، تعداد

و سطح برگ آفاقیا در خاک آلوده به نفت خام

نتایج آنالیز واریانس و میانگین ارتفاع شاهد و گیاهان رشد یافته در خاک آلوده به نفت خام در جدول‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. در غلظت‌های بالاتر از ۰.۴٪ نفت خام، هیچ گیاهی رشد نکرد. در ۱۵ روز اول اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و شاهد مشاهده شد؛ به طوری که فقط گیاهان شاهد رشد کردند. سپس از ۳۰ روز، شاهد با ارتفاع ۶/۹۷ بلندترین و تیمار ۰.۴٪ با ارتفاع ۱/۳۳ سانتی‌متر کوتاه‌ترین گیاه بود. این روند در تمامی دوره‌های اندازه‌گیری وجود داشت. کاهش ارتفاع گیاهان ۹۰ روزه در تیمارهای ۰.۱، ۰.۲، ۰.۳ و ۰.۴٪ نسبت به شاهد به ترتیب ۰/۲۴/۸۹، ۰/۶۸/۸۰، ۰/۶۹/۵۹ و ۰/۸۹/۶۸٪ اندازه‌گیری شد (جدول ۴).

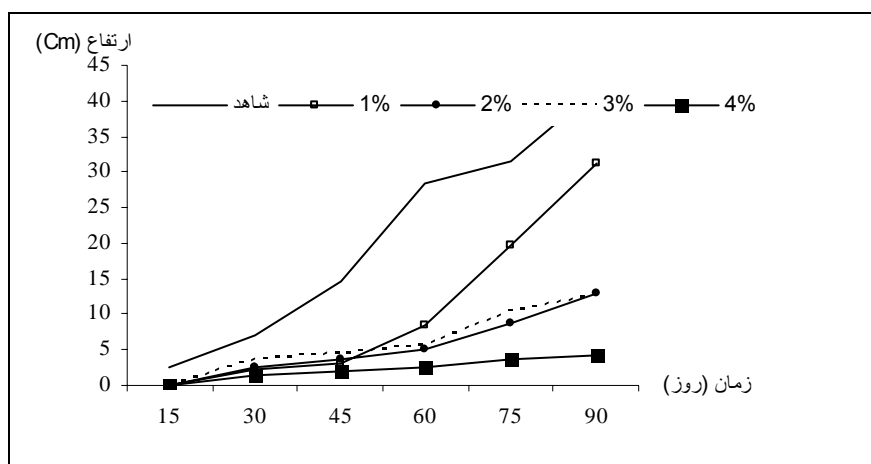
مطابق شکل ۱ رشد صعودی ارتفاع نسبت به زمان در همه تیمارها بجز تیمار ۰.۴٪ مشاهده گردید. رشد گیاه شاهد

جدول ۳- میانگین ارتفاع افاقیا \pm انحراف معیار در غلظت‌های (۰، ۱، ۲، ۳، ۴٪ حجمی/وزنی) نفت خام؛ حروف یکسان عدم اختلاف معنی‌دار را بین میانگین‌ها، مطابق دانکن و برای هر ردیف نشان می‌دهد. هر رقم میانگین ۳ تکرار است.

سن (روز)	شاهد	۱٪	۲٪	۳٪	۴٪
۱۵	۲/۵ ^b ± ۱/۲۶	۰ ^a	۰ ^a	۰ ^a	۰ ^a
۳۰	۶/۹۷ ^c ± ۰/۰۳	۲/۳۳ ^{ab} ± ۰/۳۳	۲/۵ ^{ab} ± ۰/۰۵	۳/۶۷ ^b ± ۰/۹۳	۱/۳۳ ^a ± ۰/۶۷
۴۵	۱۴/۵ ^c ± ۱/۰۴	۳/۱۶ ^{ab} ± ۰/۱۷	۳/۶۷ ^{ab} ± ۰/۳۳	۴/۴۱ ^b ± ۰/۷۲	۱/۸ ^a ± ۰/۹۳
۶۰	۲۸/۵ ^c ± ۳/۲۵	۸/۳ ^b ± ۰/۶۷	۵ ^{ab} ± ۰/۷۶	۵/۶ ^{ab} ± ۰/۵۱	۲/۶۷ ^a ± ۱/۳۳
۷۵	۳۱/۵ ^c ± ۴/۳۷	۱۹/۶۷ ^b ± ۰/۸۸	۸/۶۷ ^a ± ۱/۳۳	۱۰/۳ ^a ± ۰/۸۸	۳/۶۷ ^a ± ۱/۸۶
۹۰	۴۱/۶۷ ^b ± ۵/۴۶	۳۱/۳ ^b ± ۵/۴۶	۱۳ ^a ± ۲/۵۲	۱۲/۶۷ ^a ± ۰/۷۳	۴/۳ ^a ± ۲/۳۳

جدول ۴- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف نفت خام (۰، ۱، ۲، ۳، ۴٪ حجمی/وزنی) بر ارتفاع گیاه، تعداد برگچه و سطح برگ. مقایسه در هر ردیف و هر شاخص جداگانه انجام شده است؛ ^{ns} معنی‌دار نیست، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ** معنی‌دار در سطح ۱٪

منابع تغییر	سن گیاه	ارتفاع گیاه	تعداد برگچه	سطح برگ
اثر نفت خام	۱۵ روزه	۳/۹۴*	۴/۲*	۳/۵*
	۳۰ روزه	۱۴/۲۴**	۹/۵*	۳/۴ ^{ns}
	۴۵ روزه	۵۷/۸۳**	۳۴/۷**	۱۴/۱**
	۶۰ روزه	۴۰/۶**	۵۰/۶**	۵۰/۶**
	۷۵ روزه	۲۳/۴**	۲۴/۷**	۹/۸*
	۹۰ روزه	۱۶/۴۳**	۱۵/۰۷**	۵۱/۱۲**



شکل ۱- منحنی تغییرات ارتفاع گیاهان شاهد و گیاهان رشد یافته در خاک آلوده با غلظت‌های (۰، ۱، ۲، ۳، ۴٪ وزنی/وزنی) نفت خام نسبت به زمان.

داشت. شدت رشد سطح برگ تیمار ۱٪ در دوره‌های چهارم، پنجم و ششم به ترتیب معادل $1.7 \text{ Cm}^2/\text{day}$ ، $4/1$ و $4/7$ است، یعنی از دوره پنجم به بعد (از ۶۰ تا ۹۰ روز)، افزایش سطح برگ نمای می‌شود. در سایر تیمارها سطح برگ در کل دوره رشد کمی داشت (جدول ۶).

اختلاف معنی‌داری ($p < 0.01$) بین شاهد و تیمارها از لحاظ تعداد برگ وجود داشت (جدول ۷). کاهش تعداد برگ در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ نسبت به شاهد به ترتیب ۱۹٪، ۳۸٪، ۴۷٪ و ۸۴٪ بود. بین تیمارهای ۱٪ و سایر تیمارها نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۸).

اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بین میانگین تعداد برگچه و سطح برگ شاهد و تیمارها مشاهده گردید (جدول ۴). در ۱۵ روز اول فقط در شاهد (13 Cm^2) برگ تولید شد و تولید برگ در خاک آلوده با تأخیر آغاز گردید. در پایان دوره سه ماهه، شاهد دارای بیشترین تعداد برگچه ۲۶۱ و سپس با اختلاف معنی‌دار تیمار ۱٪ با ۱۷۳ کمترین تعداد برگچه در تیمار ۴٪ به تعداد ۱۳ بود (جدول ۵). کاهش سطح برگ گیاهان ۹۰ روزه در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ نسبت به شاهد به ترتیب ۶۶٪، ۸۵٪، ۸۷٪ و ۹۹٪ است. افزایش سطح برگ در شاهد روندی صعودی

جدول ۵- میانگین تعداد برگچه افاقیا \pm انحراف معیار در غلظت‌های (۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ حجمی/وزنی) نفت‌خام؛ حروف یکسان عدم اختلاف معنی‌دار را بین میانگین‌ها (میانگین ۳ تکرار)، مطابق دانکن و برای هر ردیف نشان می‌دهد.

سن روز	تعداد برگ			
	شاهد	۱٪	۲٪	۳٪
۱۵	$12.7^b \pm 6.17$	0.4^a	0.2^a	0.3^a
۳۰	$35^b \pm 5.8$	$7.7^a \pm 0.33$	$8.33^a \pm 1.2$	$6.3^a \pm 1.2$
۴۵	$78.3^b \pm 7.6$	$17^a \pm 0.58$	$16^a \pm 4.9$	$17.3^a \pm 2.4$
۶۰	$136^c \pm 11.5$	$42^b \pm 1.7$	$35.3^{ab} \pm 1.8$	$32.3^{ab} \pm 3.53$
۷۵	$193.3^c \pm 25.9$	$10.3^c \pm 14.01$	$68.67^{bc} \pm 6.17$	$45.3^{ab} \pm 0.67$
۹۰	$261^c \pm 54.05$	$17.3^b \pm 10.21$	$76.3^a \pm 3.18$	$66.3^a \pm 11.57$

جدول ۶- میانگین سطح برگ افاقیا \pm انحراف معیار در غلظت‌های (۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ حجمی/وزنی) نفت‌خام؛ حروف یکسان عدم اختلاف معنی‌دار را بین میانگین‌ها (میانگین ۳ تکرار)، مطابق دانکن و برای هر ردیف نشان می‌دهد.

سن روز	سطح برگ (Cm^2)			
	شاهد	۱٪	۲٪	۳٪
۱۵	$13^b \pm 6.93$	0.4^a	0.2^a	0.3^a
۳۰	$35^b \pm 8.5$	$17^a \pm 0.58$	$16^a \pm 4.9$	$17.3^a \pm 2.4$
۴۵	$78.3^c \pm 7.6$	$41^b \pm 1$	$35.7^{ab} \pm 1.76$	$35.3^{ab} \pm 6.77$
۶۰	$136^c \pm 11.53$	$42^b \pm 1.7$	$35.3^{ab} \pm 1.76$	$32.3^{ab} \pm 3.53$
۷۵	$213^c \pm 35.2$	$10.2/3^b \pm 13.3$	$68.7^{ab} \pm 6.17$	$77.7^{ab} \pm 35.2$
۹۰	$503.3^c \pm 59.0$	$17.3^b \pm 10.21$	$76.3^a \pm 3.17$	$66.3^a \pm 11.56$

تیمارهای ۱٪، ۲٪ و ۳٪ نسبت به شاهد به ترتیب ۳، ۶ و ۳ برابر افزایش و در تیمار ۴٪ تقریباً نصف شاهد بود. کاهش مقدار کلروفیل b در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ نسبت به شاهد به ترتیب ۳۸٪، ۵۶٪، ۵۸٪ و ۸۸٪ است. مقدار کلروفیل کل در تیمارهای ۱٪، ۲٪ در مقایسه با شاهد ۸۰٪ افزایش و ۷۹٪ کاهش در تیمار ۴٪ را نشان می‌دهد (جدول ۸).

ج- نتایج اثر نفت خام بر مقدار کلروفیل در خاک آلوده

اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0.05$) از لحاظ مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل بین شاهد و تیمارها مشاهده شد، ولی در خصوص نسبت کلروفیل a/b اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۷). بیشترین و کمترین میزان کلروفیل به ترتیب در تیمار ۲٪ و ۴٪ معادل ۲/۴۱ و ۰/۱۹۳ میلی‌گرم در گرم اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل a در

جدول ۷- آنالیز واریانس اثر غلظت‌های (۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ حجمی/وزنی) نفت خام بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، نسبت a/b، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ و طول ریشه گیاه افاقیاها ۹۰ روزه؛ ^{ns} معنی‌دار نیست، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ^{**} معنی‌دار در سطح ۱٪

منابع تغییر	کلروفیل			تعداد برگ	وزن برگ		طول ریشه
	a	b	کل		تر	خشک	
اثر نفت	۶/۹۶*	۱۳/۳۴*	۱۰/۱۴*	۱۵/۴۸**	۱۸/۵**	۱۷/۳**	۵/۰۲ ^{ns}

جدول ۸- میانگین تعداد برگ، مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در افاقیا در غلظت‌های مختلف نفت خام (۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ حجمی/وزنی)؛ حروف یکسان عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های مندرج را مطابق آزمون دانکن و برای هر ردیف نشان می‌دهد. هر رقم میانگین ۳ تکرار است.

شاخص	شاهد	۱٪	۲٪	۳٪	۴٪
تعداد برگ	۲۴/۳ ^c ± ۳/۳۸	۱۹/۶ ^{bc} ± ۱/۸۶	۱۵ ^b ± ۱/۵۳	۱۳ ^b ± ۱/۱۶	۴ ^a ± ۲/۰۸
کلروفیل a	۰/۴ ^a ± ۰/۰۴	۱/۲ ^{bc} ± ۰/۳۱	۲/۴ ^c ± ۰/۷۳	۱/۱۸ ^{ab} ± ۰/۰۳	۰/۱۹ ^a ± ۰/۱۸
کلروفیل b	۱/۰۶ ^c ± ۰/۰۶	۰/۶۶ ^b ± ۰/۰۹	۰/۴۷ ^b ± ۰/۱۲	۰/۴۵ ^b ± ۰/۰۳	۰/۱۳ ^a ± ۰/۱۲
کلروفیل کل	۱/۵ ^b ± ۰/۱۲	۲/۷ ^c ± ۰/۳۹	۲/۸ ^c ± ۰/۴۴	۱/۵ ^b ± ۰/۱۵	۰/۳۲ ^a ± ۰/۳۲
کلروفیل a/b	۰/۴۴ ^a ± ۰/۰۴	۳/۰۸ ^a ± ۰/۰۳	۷/۵۰ ^a ± ۴/۶۴	۲/۶۴ ^a ± ۰/۱۲	۰/۴۹۷ ^a ± ۰/۰۵

بین وزن تر و خشک ساقه (بدون برگ)، بخش هوایی و کل شاهد و آلوده اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0.01$) وجود دارد (جدول ۹). وزن تر ساقه در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ در مقایسه با شاهد به ترتیب ۷۲٪، ۹۴٪، ۹۴٪/۲ و ۹۹/۴۵ و وزن خشک ۷۵٪، ۹۱٪، ۹۶٪ و ۹۹/۶٪ کاهش را نشان می‌دهد. وزن تر بخش هوایی در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ در مقایسه با شاهد به ترتیب ۴۹٪، ۸۳٪، ۹۵٪ و ۹۹/۲٪

د- نتایج تأثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر شاخص‌های وزنی و طول ریشه در افاقیا

بین وزن تر و خشک برگ شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0.05$) وجود داشت (جدول ۷). با افزایش غلظت نفت خام از ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ وزن تر برگ به ترتیب در مقایسه با شاهد ۴۲٪، ۸۰٪، ۸۲٪ و ۹۹/۱٪ و وزن خشک ۴۱٪، ۶۴٪، ۸۲٪ و ۹۹/۶٪ کاهش را نشان داد (جدول ۱۰).

اختلاف معنی‌داری بین وزن تر ریشه، طول ریشه و نسبت وزن خشک کل به وزن تر کل شاهد و تیمارها مشاهده نمی‌شود، در حالی که وزن خشک ریشه بین شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد (جدول ۹). وزن خشک ریشه در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ در مقایسه با شاهد به ترتیب ۷۲٪، ۸۷٪، ۹۹/۹۳٪ و ۹۹/۹۹٪ کاهش را نشان داد (جدول ۱۰).

کاهش را نشان داد. بیشترین و کمترین وزن خشک بخش هوایی مربوط به شاهد (۳/۱۶ g) و تیمار ۴٪ (۰/۱۷۸ g) است. بیشترین و کمترین وزن تر کل (Total Fresh Weight, TFW) به ترتیب در شاهد (۱۷/۲ g) و تیمار ۴٪ (۰/۱۷ g) است. وزن تر کل در تیمارهای ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ در مقایسه با شاهد به ترتیب ۵۳٪، ۸۱٪، ۸۷٪ و ۹۹/۱٪ کاهش داشت. وزن خشک کل (Total Dry Weight, TDW) در تیمار ۱٪، ۵۵٪ کاهش و در تیمار ۴٪، ۹۹/۴٪ کاهش نسبت به شاهد را نشان داد (جدول ۱۰).

جدول ۹- آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف نفت خام (۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ حجمی/وزنی) بر وزن تر و خشک ساقه، ریشه، بخش هوایی، وزن تر و خشک کل، نسبت وزن خشک کل/وزن تر کل اقاویهای ۹۰ روزه؛ ns معنی‌دار نیست، * معنی‌دار در سطح ۵٪، ** معنی‌دار در سطح ۱٪

منابع تغییر	وزن ساقه		وزن ریشه		وزن بخش هوایی		وزن کل		وزن خشک/تر
	تر	خشک	تر	خشک	تر	خشک	تر	خشک	
اثر نفت	**	**	ns	*	**	**	**	**	ns
	۲۰/۰۷	۳۷/۹۴	۶/۹۶	۸/۴۳	۲۲/۱۵	۲۰/۴۳	۱۵/۲	۱۷/۷۳	۲/۷۶

جدول ۱۰- میانگین شاخص‌های وزنی (g) و طول ریشه (Cm) اقاوی در غلظت‌های مختلف نفت خام (۰٪، ۱٪، ۲٪، ۳٪ و ۴٪ حجمی/وزنی)؛ حروف یکسان عدم اختلاف معنی‌دار را بین میانگین‌های مندرج مطابق آزمون دانکن و برای هر ردیف نشان می‌دهد. هر رقم میانگین ۳ تکرار است.

شاخص	شاهد	۱٪	۲٪	۳٪	۴٪
LFW	۸/۹ ^b ±۱/۷۳	۵/۲ ^b ±۰/۳۶	۱/۸ ^a ±۰/۳۹	۱/۶ ^a ±۰/۳۶	۰/۰۹ ^a ±۰/۰۵
StFW	۳/۰۷ ^b ±۰/۶۳	۰/۸۵ ^a ±۰/۱۱	۰/۱۸ ^a ±۰/۰۵	۰/۱۸ ^a ±۰/۰۷	۰/۰۲ ^a ±۰/۰۱
ShTW	۱۲/۰۲ ^c ±۲/۱۶	۶/۰۹ ^b ±۰/۴۲	۲/۰۳ ^a ±۰/۴۳	۱/۸ ^a ±۰/۳۸	۰/۱ ^a ±۰/۰۶
RFW	۵/۱۹ ^b ±۱/۶۶	۱/۹۹ ^a ±۰/۳۳	۱/۲۶ ^a ±۰/۳۷	۰/۴ ^a ±۰/۰۹	۰/۰۶ ^a ±۰/۰۴
TFW	۱۷/۲ ^c ±۳/۸۲	۸/۰۸ ^b ±۰/۲۱	۳/۳ ^{ab} ±۰/۵۹	۲/۲ ^a ±۰/۴۷	۰/۱۷ ^a ±۰/۰۹
LDW	۲/۲ ^d ±۰/۴۲	۱/۳ ^c ±۰/۰۳	۰/۸ ^{bc} ±۰/۱۵	۰/۴ ^{ab} ±۰/۰۹	۰/۰۱ ^a ±۰/۰۰۸
StDW	۰/۹۵ ^c ±۰/۱۴	۰/۲۴ ^b ±۰/۰۳	۰/۰۹ ^{ab} ±۰/۰۱	۰/۰۴ ^{ab} ±۰/۰۱	۰/۰۰۴ ^a ±۰/۰۰۲
ShDW	۳/۱۶ ^c ±۰/۵۴	۱/۶ ^b ±۰/۰۲	۰/۶ ^a ±۰/۲۸	۰/۴۶ ^a ±۰/۱	۰/۰۲ ^a ±۰/۰۱
RDW	۰/۸۲ ^b ±۰/۲۵	۰/۲۳ ^a ±۰/۰۳	۰/۱۱ ^a ±۰/۰۳	۰/۰۶ ^a ±۰/۰۱	۰/۰۱ ^a ±۰/۰۰۶
TDW	۳/۹۷ ^c ±۰/۷۸	۱/۸ ^b ±۰/۰۳	۰/۷۱ ^{ab} ±۰/۲۸	۰/۵۲ ^a ±۰/۰۹	۰/۰۳ ^a ±۰/۰۰۲
RL	۲۹/۳ ^b ±۱/۴۵	۳۱/۶۷ ^b ±۸/۷	۴۱/۳ ^b ±۲/۳۳	۳۳/۱۷ ^b ±۱/۸۷	۱۱ ^a ±۶/۰۸
TDW/TFW	۰/۲۳ ^{ab} ±۰/۰۲	۰/۲۲ ^{ab} ±۰/۰۰۶	۰/۱۸ ^{ab} ±۰/۰۰۸	۰/۳۱ ^b ±۰/۰۰۶	۰/۱۱ ^a ±۰/۰۰۵

علایم اختصاری جدول: وزن تر کل TFW، وزن خشک کل TDW، وزن تر برگ LFW، وزن خشک برگ LDW، وزن تر ساقه StFW، وزن خشک ساقه StDW، وزن تر ریشه RFW، وزن خشک ریشه RDW، وزن تر بخش هوایی ShFW، وزن خشک بخش هوایی ShDW، نسبت وزن خشک به وزن تر کل TDW/TFW و طول ریشه RL.

بحث

رشد، کوتاهی گیاه و پژمردگی گیاه می‌شود (Agbogidi and Eshegbeyi, 2006).

تیمارهای نفتی سبب کاهش ۳۴٪ تا ۹۹٪ تعداد برگچه شدند. مشابه رشد تاج خروس در خاک آلوده، که تعداد برگ‌ها نیز مثل سایر شاخص‌های رشد در شاهد بالاتر و با افزایش غلظت نفت، کاهش نشان داد (Omosun *et al.*, 2008). در شرایط تنش‌زا حفظ مقدار آب درون بافت برای گیاه مهم است (Agbogidi *et al.*, 2007). از طرفی، 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 که تنش آبی، نمو برگ را به دو طریق، کاهش در اندازه و تعداد سلول محدود می‌کند (Peretiemo-Clarke and Achuba 2007). بررسی‌های اخیر، تأخیر در شروع تولید برگ، کلروز، کاهش سطح و کاهش وزن تر و خشک برگ افاقای 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 تاکید دارند که دلیل آن را محدودیت جذب آب توسط ریشه ذکر کرده‌اند (Agbogidi *et al.*, 2007; Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007).

نفت خام تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر طول ریشه نشان نداد (جدول‌های ۷ و ۱۰). محققان یکی از سازوکارهای گیاهان در برابر برخی تنش‌ها، مثل آلاینده‌های نفتی را توسعه ریشه می‌دانند که گیاه با افزایش طول ریشه آب و مواد غذایی مورد نیاز خود را تأمین می‌کند (Huang *et al.*, 2004).

بازدارندگی نفت خام بر وزن تر و خشک ساقه افاقیا، با افزایش غلظت نفت خام موجود در خاک وابسته بود. محققان تهویه ناکافی به دنبال آلودگی نفتی را علت

جوانه‌زنی یک مرحله مهم رشد است که به تنش‌ها بسیار حساس است (Banks and Schultz, 2005). کاهش درصد جوانه‌زنی ۱۳/۳۳٪ (تیمار ۲٪) تا ۶۶/۶۷٪ (تیمار ۱۰٪) نسبت به شاهد، حاکی از تأثیر بازدارندگی نفت خام بر این شاخص است. جلوگیری از جوانه‌زنی دانه و کاهش رشد جوانه به دنبال آلودگی نفتی وابسته به غلظت و گونه گیاهی توسط محققان گزارش شده است (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007). در بررسی تأثیر آلودگی نفت‌خام 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 and Tonukari, 2008). همچنین لایه گازوئیلی پوشاننده سطح بذر، مرزی فیزیکی را ایجاد و از دسترسی بذر به آب و اکسیژن جلوگیری می‌کند و از این طریق، سبب تأخیر در جوانه‌زنی و مرگ جنین می‌شود (Adam and Duncan, 2002). در تیمار ۱۰٪ طول ریشه چه نسبت به شاهد ۸۶/۶۶٪ کاهش نشان داد که نشان‌دهنده اثر بازدارنده نفت بر رشد ریشه‌چه است. نتایج بررسی اثر غلظت‌های متفاوت نفت بر سورگوم نیز تأثیر بازدارنده نفت را بر رشد ریشه‌چه تأیید می‌کند (Adam and Duncan 2002).

کاهش ۲۴/۸۹٪ تا ۸۹/۶۸٪ ارتفاع افاقیا در تیمارهای نفتی نسبت به شاهد نشان‌دهنده اثر بازدارندگی نفت خام بر این شاخص رشدی است. مشابه کاهش ارتفاع گیاه ذرت در خاک آلوده به نفت که از نظر محققان به علت عدم تهویه خاک است که با کاهش مواد غذایی، سبب توقف

خشک به وزن تر در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد؛ یعنی آب درون بافتی کاهش نداشته است (Huang *et al.*, 2004). در بررسی اثر گازوئیل بر شاخص‌های رشد ذرت، در بخش هوایی بین تیمارهای گازوئیل اختلاف معنی‌دار مشاهده شد، در حالی که در ریشه بین تیمارهای گازوئیلی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت؛ یعنی آلودگی دارای آثار بیشتری بر بخش‌های هوایی گیاه نسبت به ریشه است و پاسخ به اندام گیاهی وابسته است (چاقری و همکاران ۱۳۸۵).

بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل a و کل به ترتیب در تیمار ۲٪ و ۴٪ اندازه‌گیری شد. بیشترین و کمترین نسبت کلروفیل a/b به ترتیب در تیمار ۲٪ و شاهد مشاهده شد (جدول ۸). با افزایش غلظت نفت خام مقدار کلروفیل b کاهش یافت. کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها متناسب با افزایش نفت خاک در بادام‌زمینی نیز گزارش شده است (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007). در سنجش اثر غلظت‌های متفاوت قیر در چاودار، فستوکا و پوآ کاهش مقدار کلروفیل کل و افزایش نسبت کلروفیل a/b متناسب با افزایش غلظت قیر مشاهده شد. این نتیجه به گونه گیاهی متفاوت وابسته است؛ به‌طوری که در گیاه مقاوم (فستوکا) این افزایش در حد مینیمم بود و از نظر آماری قابل ملاحظه نبود (Huang *et al.*, 2004). هیدروکربن‌های پلی‌سیکلیک آروماتیک، انتقال الکترون را از طریق آسیب به پلاستوکینون‌ها مسدود می‌کنند و بدین‌وسیله 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 با کلروفیل b پیوند دارند، می‌شوند و در نهایت باعث افزایش حساسیت به نور در گیاه می‌شوند (Huang *et*

Smith *et al.*, 1989). نفت سنگین سبب کلروز، کاهش ارتفاع ساقه و شل شدن و مرگ ساقه *Salicornia virginica* شد که همگی از علایم حضور یک تنش هستند (Rosso *et al.*, 2005).

کاهش ۴۰ تا ۹۹ درصدی وزن تر و خشک برگ، ساقه، بخش هوایی و کل اقاویا نسبت به شاهد وابسته به غلظت نفت خام مشاهده شد (جدول ۱۰). محققان علت 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 رشد تمامی بخش‌ها منجر می‌گردد. (Chaineau *et al.*, 1997; Palmroth *et al.*, 2002)

در بررسی وزن تر ریشه تفاوت معنی‌داری بین شاهد و تیمارها دیده نشد، در حالی که اختلاف معنی‌دار در خصوص وزن خشک ریشه مشاهده شد. در بررسی وزن تر ریشه گلرنگ *Carthamus tinctorius* و ذرت *Zea mays* توسط چاقری و همکاران (۱۳۸۵) نیز به غیر از تیمار ۱۳/۵٪ کاهشی در این شاخص رشدی وجود نداشت، زیرا برخی گونه‌های گیاهی به آلودگی نفتی حساس و برخی مقاوم هستند. تفاوت بزرگی بین گیاهان حساس و مقاوم در پاسخ دیده می‌شود. یکی از سازوکارهای گیاهان برای حفظ و بقا در شرایط تنش، حفظ و نگهداری مقدار آب بافت گیاهی است. در خاک آلوده به قیر، نسبت وزن خشک به وزن تر بخش هوایی چاودار (*Secale montanum*) و پوآ (*Poa paratensis*) با افزایش آلودگی افزایش دارد (یعنی مقدار آب درون بافتی در گونه‌های حساس کاهش می‌یابد)، ولی فستوکا (*Festuca arundinacea*) به عنوان یک گیاه متحمل، با افزایش آلودگی نفت خام نسبت وزن

در پایان دوره سه ماهه اختلاف معنی‌داری بین ارتفاع شاهد و تیمار ۱٪ مشاهده نمی‌شود. بنابراین، افاقیا را می‌توان یک گیاه متحمل به آلودگی نفتی در غلظت‌های کم در نظر گرفت. سازوکار گیاه برای حفظ بقا در برابر تنش فوق‌عدم تغییر طول ریشه به منظور کسب آب و مواد غذایی و حفظ آب درون بافتی است.

قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می‌دانند از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک، جهت حمایت مالی و اجرایی این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی کنند.

(2004). *al.* افزایش نسبت کلروفیل a/b در تنش سموم شیمیایی گزارش شده است. تأثیرات بنزوپیرین در فتوسنتز و تنفس گیاه از طریق آسیب به کلروفیل و بازدارندگی آنزیمی در انتقال الکترون مشاهده شده است (Meudec et al., 2007). کاهش میزان کلروفیل در *Corchorus olitorius* متناسب با افزایش میزان تنش آلودگی نفتی نیز گزارش شده است (Clementina et al., 2008). بنابراین، نفت‌خام می‌تواند باعث القای تنش‌های محیطی در گیاه افاقیا گردد، تأخیر در شروع رشد و کاهش اکثر شاخص‌های رشدی، به خصوص در مراحل اولیه رشد مبین این مسأله است، ولی در دوره‌های بعدی رشد (از ۴۵ روز به بعد) شدت رشد در تیمار ۱٪ بیش از شاهد شد؛ به طوری که

منابع

چاقری، ز.، آقایی، ف.، ابراهیمی پور، غ. و شاکر بازارنو، ح. (۱۳۸۵) بررسی تأثیرات گازوئیل بر میزان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برخی از گونه‌های زراعی. علوم محیطی ۴(۱۳): ۶۹-۸۰

Adam, G. and Duncan, H. (2002) Influence of petroleum hydrocarbon on seed germination. *Journal of Environmental Pollution* 120: 363-370.

Agbogidi, O. M. and 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* 22:1-13.

Agbogidi, O. M., Eruotor, P. G. and Akparobi, S. O. (2007) Effects of crude oil levels on the growth of maize (*Zea mays L.*). *Journal of Food Technology* 2(6): 529-535.

Anigboro, A. and Tonukari, N. (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.

Anoliefo, G. O., Isikhuemhen, O. S. and Ohimain, E. I. (2006) Sensitivity studies of the common bean (*Vigna unguiculata*) and maize (*Zea mays*) to different soil types from the crude oil drilling sites at Kutchalli, Nigeria. *Journal of Soils Sediments* 6(1): 30-36.

Banks, M. K. and Schultz, K. E. (2005) Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. *Water, Air and Soil Pollution* 167: 211-219.

Chaineau, C. H., Morel, J. L. and Oudot, J. (1997) Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *Journal of Environmental Quality* 26: 1478-1483.

Clementina, O. A., Olusola, J. O. and Luqman, S. K. (2008) Effect of spent engine oil on the growth parameters and chlorophyll content of

- Corchorus olitorius* L. Journal of Environmentalist 28: 446-450.
- Finch-Savage W. E and Leubner-Metzger, G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist 171: 501-523.
- Greenberg, B. M., Huang, X. D., Gerhardt, K., Glick, B. R. Gurska, J., Wang, W., Lampi, M., Khalid, A., Isherwood, D., Chang, P., Wang, H., Shah Wu, S., Yu, X. M. and Dixon, D. G. (2007) Field and laboratory tests of a multi-process phytoremediation system for decontamination of petroleum and salt impacted soils. In: Proceedings of the 9th International In Situ and On-Site Remediation Symposium. Batelle Press, Columbus.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular 347: 1-32.
- Huang, X. D., El-Alawi, Y., M. Penrose, D. R., Glick, B. and Greenberg, B. (2004) Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. Journal of Environmental Pollution 130: 453-463.
- Maila, M. P. and Cloete, T. E. (2002) Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons removals from contaminated soil. International Biodeterioration and Biodegradation 50: 107-113.
- Malallah, G., Afzal, M., Kurian, M., Gulshan, S. and Dhami, M. S. I. (1998) Impact of oil pollution on some desert plants. Journal of Environment international 24(8): 919-924.
- Meudec, A., Poupart, N., Dussauze, J. and Deslandes, E. (2007) Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in *Salicornia fragilis*. Journal of Science of the Total Environment 381: 146-156.
- Nasir, H., Iqbal, Z., Hiradate, S. and Fujii, Y. (2005) Allelopathic potential of *Robinia pseudo-acacia* L. Journal of Chemical Ecology 31: 2179-2192.
- Omosun, G., Markson, A. A. and Mbanasor, O. (2008) Growth and anatomy of *Amaranthus Hybridus* as affected by different crude oil concentrations. American-Eurasian Journal of Scientific Research 3(1): 70-74.
- Palmroth, M. R. T., Pichtel, J. and Puhakka, J. A. (2002) Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. Bioresource Technology 84: 221-228.
- Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z. and Zhang, Z. (2009) Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis Jalapa* L. in greenhouse plot experiment. Journal of Hazardous Materials 168: 1490-1496.
- Peretiemo-Clarke B. O. and Achuba, F. I. (2007) Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. Journal of Plant Pathology 6(2): 179-182.
- Rosso, P. H. C., Pushnik, J., Lay, M. L. and Ustin, S. (2005) Reflectance properties and physiological responses of *Salicornia virginica* to heavy metal and petroleum contamination. Journal of Environmental Pollution 137: 241-252.
- Smith, B., Stachowisk, M. and Volkenbugh, E. (1989) Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic root stress. Journal of Experimental Botany 40(1):89-94.
- Wang, Y. and Oyaizu, H. (2009) Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofuran-contaminated soil. Journal of Hazardous Materials 168: 760-764.

Evaluation of germination, growth and chlorophyll content of *Rubinia pseudoacacia* L. as affected by petroleum pollution

Mehri Askary Mehrabadi*, Mitra Noori, Fariba Amini and Fatemeh Beigi

Department of Biology, Faculty of Science, University of Arak, Arak, Iran

Abstract

In oil producing countries, soil contamination by petroleum is one of the most important environmental pollutions. Crude oil can leak into the soil during extraction purification and transportation. The soil pollution could damage the environment as well as plant and animal populations. In this study, effects of different concentration of crude oil (0%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10% w/w) on germination, growth and chlorophylls content in *Rubinia pseudoacacia* was investigated. The results showed that the germination rate and radicle lengths decreased significantly ($p \leq 0.05$) with increasing concentrations of petroleum. The growth parameters such as plant length, leaf number, leaf area, root and aerial part fresh and dry weight of plants decreased progressively from 1-4% crude oil in soil. In concentrations higher than 4% no growth was observed. The highest total leaf area of 503 cm² was found in the control plant and least was found in the 4% soil (13 cm²) after 12 weeks. The chlorophyll *b* content progressively decreased from 1-4% crude oil in soil. The highest chlorophyll *a* content was measured for 2% plants. These results seemed to suggest that crude oil induced environmental stress in seedlings.

Key words: Petroleum pollution, Plant growth and germination, *Rubinia pseudoacacia* L., Chlorophyll

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

