زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هفتم، شماره بیست و پنجم، پاییز ۱۳۹۴، صفحه ۸۵-۹۸
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۰۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۱/۲۲
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۴/۰۹
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۷/۱۲

بررسی تأثیر برهمکنش ریزوسفر و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل بر برخی شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه ذرت (*Zea mays*) در خاک‌های آلوده به گازوییل

ناهید دیندار [۱]، احمد مهتدی [۱]* و مهدی حسن‌شاهیان [۲]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

چکیده
آلودگی خاک با ترکیبات نفتی یکی از شایع‌ترین معضلات زیست محیطی است که باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود. در پژوهش حاضر، به منظور بررسی برهمکنش بین ریزوسفر خاک و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل بر برخی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی دو رقم ذرت (۶۴۰ و ۷۰۴) در خاک‌های آلوده به گازوییل، چهار تیمار آزمایشگاه تحت شرایط گوناگون طراحی شد. عوامل متعدد فیزیولوژیک و میکروبی ارزیابی شد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که طول ریشه و بخش هوایی و کلروفیل کل در حضور تیمارها در هر دو رقم ذرت نسبت به گیاه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. تنش ایجاد شده موجب افزایش معنی‌دار میزان کارتنویید و مالون‌دی‌آلدئید، در تیمار گازوییل و همچنین تیمار گازوییل و باکتری *Peseudomonas fragi* نسبت به شاهد در هر دو رقم شد. محتوای آنتوسیانین و پروتئین نیز افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. تنش اعمال شده به افزایش تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده و هتروتروف و مقدار آنزیم دهیدروژناز منجر شد. بنابراین، می‌توان گفت که تیمار گازوییل سبب کاهش رشد گیاه ذرت شد و افزودن باکتری‌های تجزیه‌کننده اثر کاهشی تیمار گازوییل بر رشد گیاه را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: آلاینده‌های نفتی، تنش اکسیداتیو، سودوموناس، ذرت، گازوییل

مقدمه
آلودگی خاک به ترکیبات نفتی یکی از شایع‌ترین معضلات زیست محیطی است. هیدروکربن‌های نفتی یکی از متداول‌ترین گروه‌های آلاینده آلی پایدار در محیط هستند (Huang *et al*., 2005). ورود ترکیبات نفتی به درون خاک می‌تواند با تغییر ویژگی های

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: a.mohtadi@yu.ac.ir، شماره تماس: ۰۷۴۳۳۲۲۳۰۴۸

Copyright©2015, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Archive of SID

www.SID.ir

شیمیایی و فیزیکی خاک، قابلیت دسترسی عناصر غذایی را برای استفاده گیاهان کاهش دهد (Njoku *et al.*, 2008)، این حالت به علت خاصیت آبگریزی ترکیبات نفتی است که موجب تغییر رفتار خاک و ناهمگن شدن انتشار آب در خاک می‌گردد (Bengough, 2003). ریشه گیاه طیف گسترده‌ای از مولکول‌های آلی هیدروفیل و لیپوفیل را جذب می‌کند. همچنین توانایی جذب ترکیباتی با حلالیت بسیار پایین مانند هیدروکربن‌ها حلقوی را دارد (Kvesitadze *et al.*, 2006). البته میزان آبگریز بودن ترکیبات در مراحل جذب توسط ریشه یک عامل مؤثر در جذب آنها است. گونه‌های مختلفی از گیاهان توانایی تجمع و تحمل ترکیبات آروماتیک‌های حلقوی (PAHs, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) را دارند (Kavousi Bafti *et al.*, 2014). گزارش شده است که گیاهانی مانند: تاج خروس، چاودار، گندم، جوی دو سر، ذرت، نخود و هویج آلاینده‌های نفتی و PAHs را از محیط جذب می‌نمایند (Pradhan *et al.*, 2003). گیاهان با داشتن سازوکارهای طبیعی نظیر: جذب، تبخیر گیاهی، کاهش گیاهی، استخراج گیاه و تجزیه ترکیبات آلاینده‌های محیطی، اهمیت بالایی در روش‌های اصلاح زیستی مناطق آلوده دارند (Eman, 2008). در گیاه‌پالایی برهمکنش بین ریشه گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک، به تجزیه آلاینده‌های آلی پایدار کمک می‌کند (Luepromchai *et al.*, 2007). حذف ترکیبات نفتی از خاک در گیاه‌پالایی، غالباً به میکروارگانیسم‌هایی که در ریزوسفر، تحت تأثیر ریشه گیاه زندگی می‌کنند، نسبت داده می‌شود (Luepromchai *et al.*, 2007). یافته‌ها این فرضیه را تقویت می‌کند که گیاهانی که تحت تأثیر هیدروکربن‌های آروماتیک قرار گرفته‌اند، تحت تأثیر تنش، دچار پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Liu *et al.*, 2009). اندازه‌گیری محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدها یکی از راه‌های تشخیص تنش اکسیداتیو است. شواهد نشان می‌دهد که مالون‌دی‌آلدئید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع است که به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود (Mittler, 2002). افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان تیمار شده احتمالاً به دلیل افزایش گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی است (Nakano *et al.*, 2002). در کلروپلاست‌ها، کارتنویید‌ها به عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کند اما نقش مهم‌تر آنها نقش آنتی‌اکسیدانی آنها است (Egert and Tevini, 2002). امروزه با استفاده از رابطه بین گیاه و باکتری می‌توان در جهت حذف یا کاهش آلودگی آلاینده‌های نفتی استفاده کرد. برای نمونه، Chaudhry و همکاران (۲۰۰۵) از تعامل بین باکتری های ریزوسفر و گیاه جهت افزایش شکست آلاینده‌های آلی در خاک استفاده کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که تیمار همزمان خاک با تعامل گیاه و باکتری به افزایش تجزیه زیستی آلاینده‌ها در خاک آلوده منجر می‌شود (Chaudhry *et al.*, 2005). سودوموناس‌ها از باکتری‌های گرم منفی، هوازی و تجزیه کننده‌های مؤثر آلاینده‌های نفتی و مشتقات آنها هستند. این گروه از باکتری ها قادرند بیش از ۱۰۰ نوع ترکیب

Archive of SID

www.SID.ir

سمّی را تجزیه کنند. آکروموباکترها جزو باکتری های گرم منفی، میله‌ای و متحرک هستند که به طور اختصاصی می‌توانند گازوییل را تجزیه کنند (Hassanshahian *et al*., 2012). ریشه گیاه ذرت به دلیل تولید مواد کموتاکسیک باعث جذب این باکتری‌ها به سمت خود می‌شود. علت انتخاب باکتری های فوق در پژوهش حاضر از آن جهت بود که این باکتری‌ها قابلیت تجزیه مؤثر برخی از ترکیبات نفتی به ویژه گازوییل را دارند و از سوی دیگر، کموتاکسی مثبت به سمت ریشه ذرت دارند (Kavousi Bafti *et al*., 2014). بر این اساس، در پژوهش حاضر با توجه به وجود سیستم ریشه‌ای گسترده در گیاه ذرت، اثر گازوییل بر برخی شاخص های رشد و بیوشیمیایی گیاه ذرت و همچنین اثر متقابل گازوییل و باکتری تجزیه‌کننده بر شاخص‌های بیوشیمیایی آن و در نهایت، برهمکنش بین این گیاه و باکتری های تجزیه کننده گازوییل در جهت کاهش آلودگی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

ابتدا بذرهای گیاه ذرت (*Zea mays*) ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ از مرکز خدمات کشاورزی یاسوج، تهیه شد. بذرها پس از ضدعفونی توسط هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد برای جوانه‌زنی به ظروف پتری‌دیش حاوی کاغذ صافی مرطوب انتقال یافت. گلدان‌های حاوی ترکیب ۵۰۰ گرم خاک و ۵۰۰ گرم ماسه به چهار گروه تقسیم شد: در گروه اول خاک بدون آلودگی گازوییلی و بدون افزودن باکتری آماده شد که در هر گلدان چهار دانه رُست ذرت ۵ روزه کشت گردید. در گروه دوم به میزان ۱ درصد وزنی/ وزنی گازوییل به یک کیلوگرم خاک اضافه شد و دانه‌رُست‌ها در آنها کشت گردید. در گروه سوم علاوه بر افزودن ۱ درصد گازوییل به خاک، بافر حاوی باکتری کشت داده شده *Peseudomonas fragi* نیز به خاک اضافه شد. در گروه چهارم علاوه بر ۱ درصد گازوییل مخلوط سه باکتری: *Achromobacter denitrificans*، *Peseudomonas aeruginosa* و *P. fragi* به خاک اضافه شد. برای هر تیمار، چهار گلدان به عنوان چهار تکرار در نظر گرفته شد. همه تیمارها در شرایط فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۱۵ تا ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و به مدت ۲۸ روز در این شرایط رشد کردند. آبیاری گیاهان هر دو روز یک بار انجام شد به طوری که ۷۰ درصد رطوبت نسبی خاک حفظ شود. پس از گذشت دوره زمانی ۲۸ روزه برخی از شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی، آنزیمی و میکروبی جهت بررسی اثر هر یک از تیمارها روی گیاه ذرت ارزیابی شد.

باکتری‌های استفاده شده: در پژوهش حاضر از سه باکتری: *Achromobacter denitrificans*، *Peseudomonas aeruginosa* و *P. fragi* استفاده شد که در پژوهش حاضر، به ترتیب اختصار عبارتند از: D، L و K. این باکتری‌ها در پژوهش‌های پیشین جداسازی، شناسایی و تعیین هویت شده‌اند (Hassanshahian *et al*., 2013). باکتری‌ها پیش از افزودن به خاک در محیط نوترینت براث (شرکت Merck، آلمان) کشت داده شدند تا کدورت نوری آنها در ۶۰۰ نانومتر به ۰/۵ برسد که این کدورت نوری معادل 10^8 باکتری در هر گرم خاک است. در مرحله بعد،

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری های رشد یافته با سانتریفیوژ در دور ۵۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شد و در بافر فسفات حل شدند. سپس به میزان ۵ میلی‌لیتر در تیمارهای مختلف به خاک گلدان‌ها اضافه شد. هر سه باکتری استفاده شده در این پژوهش تجزیه‌کننده هستند. تفاوت باکتری‌های فوق در این است که جنس سودوموناس قابلیت تجزیه تمامی ترکیبات نفتی را دارد اما جنس آکروموباکتر تنها می‌تواند گازوییل را تجزیه کند، به بیان دیگر، قابلیت تجزیه‌ای سودوموناس بالاتر از آکروموباکتر است. بر اساس تحقیقات Hassanshahian همکاران (۲۰۱۲)، این سه باکتری بالاترین میزان تجزیه‌کنندگی را نشان دادند، لذا برای پژوهش حاضر نیز انتخاب شدند.

کشت باکتری‌های هتروتروف و تجزیه‌کننده گازوییل: به منظور بررسی سیر تغییرات جمعیتی باکتری‌های هتروتروف و باکتری‌های تجزیه‌کننده، شمارش این باکتری ها در خاک انجام شد بدین صورت که برای کشت باکتری های هتروتروف به پلیت‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار استریل (شرکت Merck، آلمان) از رقت‌های 10^{-5} میلی‌لیتر بر گرم هر کدام به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت‌های جداگانه و در شرایط استریل انتقال داده شد، سپس توسط میله سر صاف در سطح پلیت گسترش پیدا کرد، همچنین برای کشت باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های 10^{-2} میلی‌لیتر بر گرم به پلیت‌های حاوی محیط بوشنل هاس (Bushnell-HAS) (شرکت Merck، آلمان) اضافه گردید (Hassanshahian *et al*., 2013).

اندازه گیری شاخص‌های رشد: ابتدا گیاهان ۲۸ روزه ذرت به دقت از خاک خارج و به آرامی زیر آب روان شستشو داده شد به نحوی که ریشه‌ها جدا نشوند. برای اندازه‌گیری طول ریشه و اندام هوایی، پس از برداشت گیاهچه‌ها ریشه و ساقه آنها جدا شد و طول هر یک از آنها توسط خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: مقدار کلروفیل و کارتنویید با روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد.

غلظت مالون‌دی آلدئید: میزان مالون‌دی آلدئید (MDA) با روش Heath و Packer (۱۹۶۹) اندازه‌گیری شد. بر پایه این روش، ۰/۲ گرم از بافت تازه گیاه (برگ و ساقه) با ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد در حمام آبگرم حرارت داده شد و بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل UV-2100، شرکت Unico، آمریکا) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

آنتوسیانین: محتوای آنتوسیانین اندام هوایی با روش Wagner (۱۹۷۹) اندازه گیری شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاهان با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) در هاون چینی کاملاً ساییده و عصاره در لوله های آزمایش سر پیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفیوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارایه گردید.

پروتئین: برای سنجش مقدار پروتئین، ابتدا پروتئین‌ها از اندام هوایی گیاه در دمای ۰ تا ۴ درجه سانتیگراد استخراج شدند. به این منظور، ۱ گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته برابر ۷/۲ که شامل اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار، فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) ۱ میلی‌مولار و پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱ درصد بود، ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در ۱۴۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. از محلول رویی برای مطالعه الگوی ایزوآنزیم‌ها (زیموگرام) و فعالیت آنزیم‌ها و نیز سنجش پروتئین استفاده گردید (این محلول در ظرف اپندورف و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد). برای سنجش مقدار پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. به این منظور، به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی لیتر معرف بیوره افزوده و به سرعت ورتکس شد. پس از ۲ دقیقه و پیش از یک ساعت جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک: ۵ گرم خاک با ۵ میلی‌لیتر محلول تری فنیل تترازولیوم کلرید (TTC) با غلظت ۱ درصد حل شده در بافر تریس HCl با غلظت ۰/۱ مول بر لیتر در درون لوله آزمایش شیشه‌ای درب‌دار مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد، سپس به میزان ۴۰ میلی‌لیتر استون سرد به لوله‌ها افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از عبور مخلوط از کاغذ صافی میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر تعیین گردید (Casida *et al*., 1964).

شمارش تعداد باکتری های تجزیه کننده و هتروتروف: تعداد باکتری های هتروتروف در خاک (در زمان‌های ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱) با روش رقت‌سازی و کشت در محیط نوترینت آگار (شرکت Merck، آلمان) تعیین گردید. تعداد کل باکتری‌های تجزیه‌کننده نیز با روش رقت‌سازی و کشت در محیط Bushnell Hass (شرکت Merck، آلمان) حاوی ۱ درصد گازوییل به عنوان منبع کربن تعیین گردید (Rahman *et al*., 2004).

تحلیل داده‌ها: پژوهش حاضر در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار انجام شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

آلودگی با گازوییل باعث کاهش معنی‌دار ۸۳/۲۸، ۶۷/۶۵ و ۶۲/۱۲ درصدی طول ریشه گیاه ذرت رقم ۷۰۴ به ترتیب: در تیمار ۱ درصد گازوییل، تیمار گازوییل + باکتری K و تیمار گازوییل + باکتری های D، K و L نسبت به گیاه شاهد (خاک بدون گازوییل و بدون باکتری‌های تجزیه‌کننده) شد. این تنش، در رقم ۶۴۰ به ترتیب کاهش معنی دار ۸۷/۶۲، ۷۴/۸۶ و ۶۶/۲۰ درصدی را در تیمارهای: ۱ درصد گازوییل، گازوییل + باکتری K و گازوییل + باکتری های K، L و D نسبت به شاهد به همراه داشت. اندازه بخش هوایی در تیمار گازوییل در ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ به ترتیب به میزان ۵۸/۱۶ و ۵۹/۹۵ درصد نسبت به گیاه شاهد کاهش یافت. در تیمار گازوییل + باکتری های D، K و L کاهش ۳۳/۳۶ و ۴۶/۷۷ درصدی به ترتیب در ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد (شکل ۱). با توجه به این نتایج، تیمار ۱ درصد گازوییل سبب کاهش رشد ریشه و بخش هوایی گیاه ذرت شد و افزودن باکتری های تجزیه‌کننده اثر کاهشی تیمار ۱ درصد گازوییل بر رشد اندام هوایی و ریشه را تا حدودی بهبود بخشید. برای نمونه، کاهش ۸۳/۲۸ درصدی طول ریشه رقم ۷۰۴ در تیمار ۱ درصد گازوییل، به کاهش ۶۷/۶۵ درصدی در تیمار گازوییل + باکتری K و کاهش ۶۲/۱۲ درصدی در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L تغییر یافت. همچنین، با توجه به نتایج به دست آمده بین تیمار گازوییل + باکتری K و تیمار گازوییل + باکتری های D، K و L اختلاف معنی‌داری در خصوص طول ریشه و بخش هوایی مشاهده نشد.

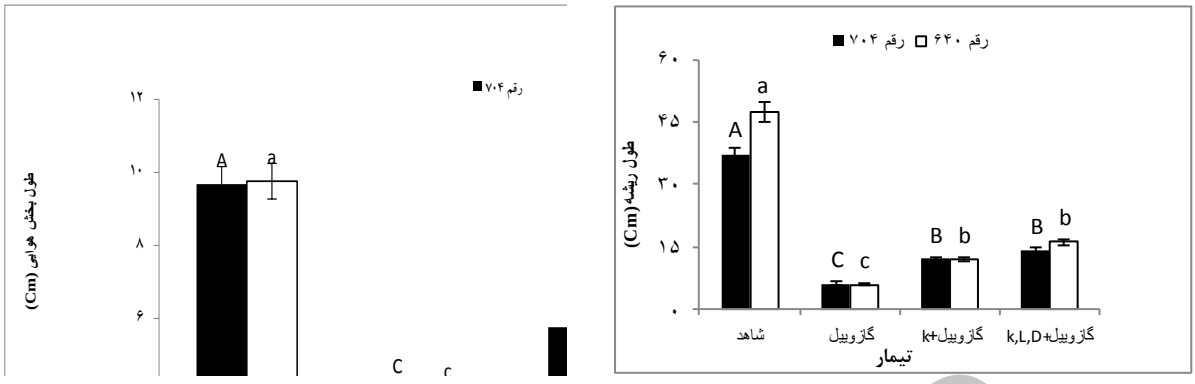
کلروفیل کل در گیاه ذرت ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ در تیمار ۱ درصد گازوییل به ترتیب کاهش معنی‌داری به میزان ۲۵/۵۵ و ۶۳/۴۵ درصد را نسبت به گیاه شاهد نشان داد و در تیمار گازوییل + باکتری K به ترتیب کاهش معنی‌دار ۱۷/۷۱ و ۴۱/۸۹ درصدی نسبت به گیاه شاهد نشان داد. همچنین، در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L در رقم ۶۴۰ کاهش ۲۱/۹۴ درصدی معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد در مقایسه با کاهش ۵/۵۵ درصدی رقم ۷۰۴ وجود داشت (شکل ۲).

در میزان کاروتنویید در رقم ۷۰۴ و ۶۴۰ در تیمار ۱ درصد گازوییل نسبت به شاهد به ترتیب افزایش معنی‌دار ۸۵/۹۸ و ۹۵/۱۰ درصدی مشاهده شد و در تیمار گازوییل + باکتری K به ترتیب افزایش ۴۰/۱۸ و ۳۹/۶۳ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۲).

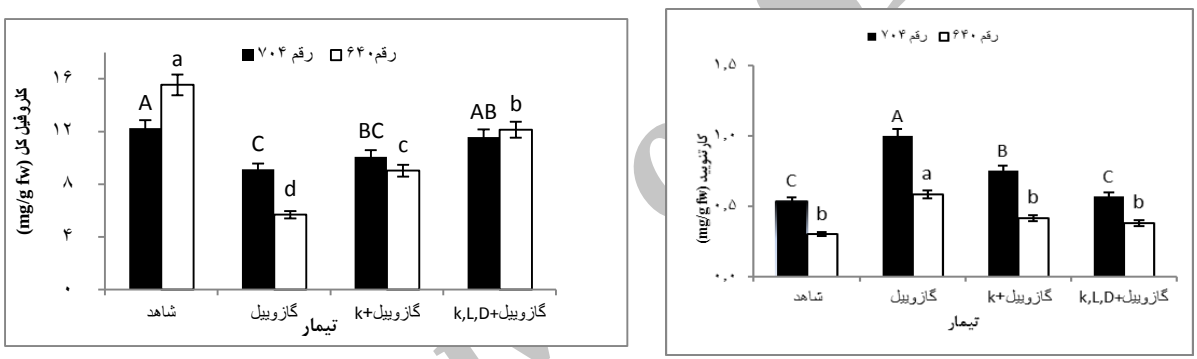
همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است میزان مالون‌دی آلدئید نسبت به شاهد در ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ به ترتیب در تیمار ۱ درصد گازوییل برابر با ۸۶/۶۶ و ۹۰ درصد افزایش، در تیمار گازوییل + باکتری K، برابر با ۲۰ و ۳۵ درصد افزایش و در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L برابر با ۱۳/۳۳ و ۲۰ درصد افزایش داشت. در رقم ۷۰۴ در تیمار ۱ درصد گازوییل و در تیمار گازوییل + باکتری K افزایش معنی‌دار بود اما در رقم ۶۴۰ در تمام تیمارها افزایش معنی‌دار بود. افزایش بیشتر میزان مالون‌دی آلدئید در رقم ۶۴۰ در تمام تیمارها نسبت به رقم ۷۰۴ نشان‌دهنده آسیب بیشتر تنش ایجاد شده در این رقم بود.

Archive of SID

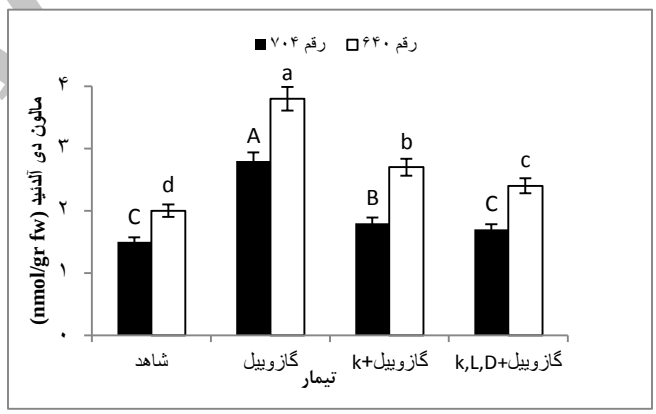
www.SID.ir



شکل ۱- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر طول ریشه و بخش هوایی در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.



شکل ۲- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر میزان کلروفیل کل و کارتنویید در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.



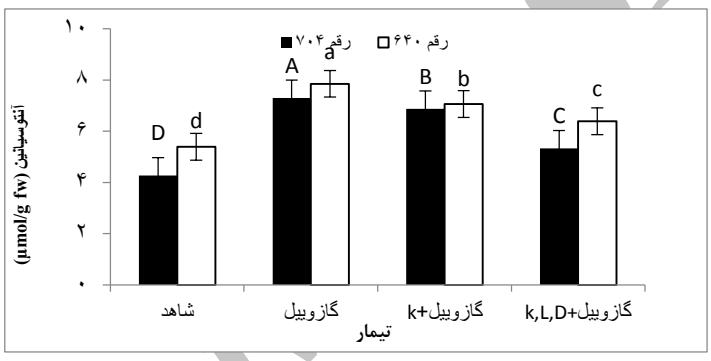
شکل ۳- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

Archive of SID

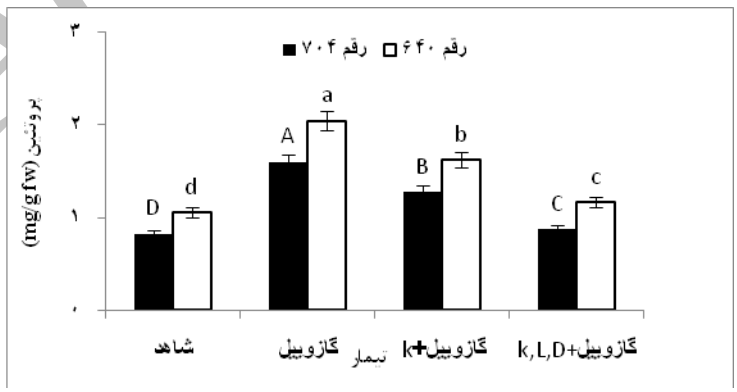
www.SID.ir

محتوای آنتوسیانین در تیمار ۱ درصد گازوییل در ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ به ترتیب به میزان ۷۰/۹۶ و ۴۳/۷۸ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی‌دار یافت. در تیمار گازوییل + باکتری K افزایش ۶۰/۸۸ و ۳۰/۹۸ درصدی مشاهده شد و در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L افزایش ۲۴/۸۲ و ۱۸/۵۵ درصدی نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد (شکل ۴). تنش ایجاد شده در همه تیمارها در هر دو رقم تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد داشت.

غلظت پروتئین در گیاه ذرت رقم ۷۰۴ در تیمار ۱ درصد گازوییل به میزان ۹۳/۹۳ درصد افزایش، در حضور گازوییل + باکتری K به میزان ۵۵/۱۵ درصد افزایش و در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L افزایش ۵/۸۱ درصدی نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد. اما در رقم ۶۴۰ در تیمار ۱ درصد گازوییل به میزان ۹۳/۵۶ درصد افزایش، در تیمار گازوییل + باکتری K ۵۳/۲۶ درصد افزایش و در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L افزایش ۱۰/۵۹ درصدی نسبت به گیاه شاهد وجود داشت (شکل ۵).



شکل ۴- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر محتوای آنتوسیانین در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.



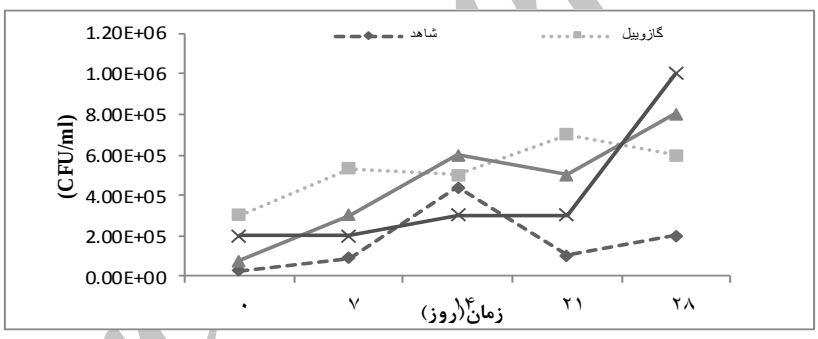
شکل ۵- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر مقدار پروتئین در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

Archive of SID

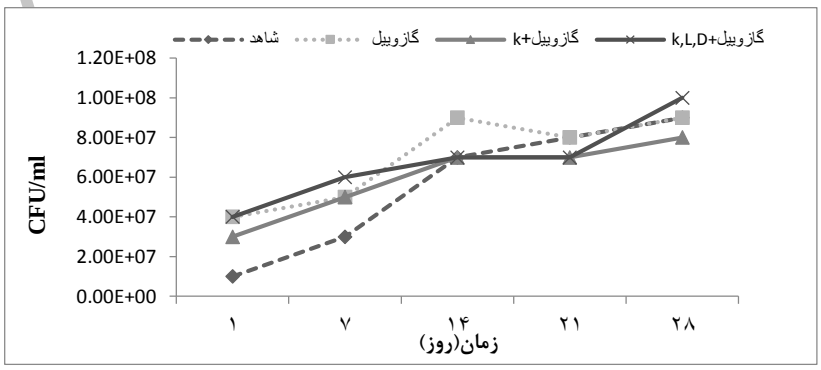
www.SID.ir

همان طور که در شکل ۶ نشان داده شده است تعداد باکتری‌های D، K و L در تیمارهای: شاهد، گازوییل + باکتری K و گازوییل + باکتری‌های D، K و L افزایش معنی‌داری داشته است. اما در تیمار گازوییل ۱ درصد روند افزایشی مشاهده نشد. تعداد باکتری‌ها در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L، بیش از سایر گلدان‌ها بود که افزایش معنی‌داری حدود ۱۷۰ درصد داشت به طوری که در انتهای زمان آزمایش (روز ۲۸ ام) به ۱/۰۰ E+۰۶ رسید. با توجه به این که نوع رقم یک گیاه اثر چندانی بر جامعه میکروبی خاک ندارد (Ke *et al.*, 2003) و این موضوع در بسیاری از تحقیقات ثابت شده است، در پژوهش حاضر نیز به طور جداگانه برای هر دو رقم شمارش انجام شد، اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، بنابراین در ادامه کار شمارش فقط برای یک رقم انجام شد.

با توجه به شکل ۷ تعداد باکتری‌های هتروتروف حاضر در جامعه باکتریایی هتروتروف خاک در هر چهار تیمار تا روز چهاردهم روند افزایشی تدریجی را طی کرد. از روز بیست و یکم تا بیست و هشتم این تعداد به بیشترین مقدار خود رسید که در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود، به طوری که در انتهای زمان آزمایش (روز ۲۸ ام) به ۱/۰۰ E+۰۸ رسید.



شکل ۶- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) در بازه‌های زمانی ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بر تغییرات تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده (CFU) در ریزوسفر گیاه *Zea mays*

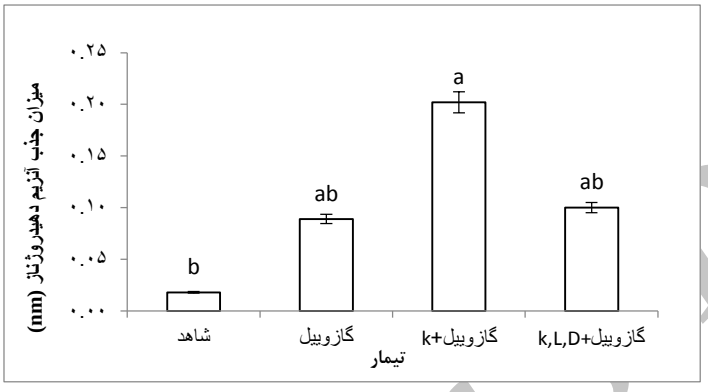


شکل ۷- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) در بازه‌های زمانی ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بر تغییرات تعداد باکتری‌های هتروتروف (CFU) در ریزوسفر گیاه *Zea mays*

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به شکل ۸ فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک (شرایط خاک برای هر دو رقم یکسان بود) در تیمار گازوییل + باکتری K افزایش معنی‌دار و قابل توجهی نسبت به شاهد نشان داد، اما در تیمار ۱ درصد گازوییل و تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L افزایش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد مشاهده نشد.



شکل ۸- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز در ریزوسفر گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

بحث

تیمار گازوییل ۱ درصد باعث ایجاد تغییراتی در برخی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی گیاه ذرت شد. این تغییرات باعث کاهش اندازه طول ریشه و بخش هوایی و میزان کلروفیل کل و افزایش میزان کارتنویید، پروتئین، آنتوسیانین و مالون‌دی‌آلدئید گردید که بیانگر تنش اکسیداتیو در گیاه است. آلودگی گازوییلی ایجاد شده کاهش معنی داری را در اندازه طول ریشه و بخش هوایی نسبت به گیاه شاهد در تیمارهای ۱ درصد گازوییل، گازوییل + باکتری K و گازوییل + باکتری‌های D، K و L داشت. به طوری که بیشترین تفاوت معنی دار در قسمت طول ریشه و بخش هوایی بین تیمار ۱ درصد گازوییل و شاهد مشاهده شد. نتایج بررسی حاضر مشخص کرد که کلروفیل کل در تمامی سطوح تنش های اعمال شده کاهش معنی داری دارد و افزودن باکتری‌های تجزیه کننده اثر منفی تیمار گازوییل بر شاخص‌های رشد را بهبود می‌بخشد. بر اساس نتایج به دست آمده، با کاهش کلروفیل، کاروتنویید افزایش یافته است. این افزایش، در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L معنی‌داری نبود و بیشترین تفاوت بین تیمار ۱ درصد گازوییل و شاهد در رقم ۷۰۴ وجود داشت که نشان‌دهنده مقابله بیشتر رقم ۷۰۴ نسبت به رقم ۶۴۰ در برابر تنش گازوییل است. عامل دیگری که بررسی شد، میزان مالون‌دی‌آلدئید بود. تنش ایجاد شده باعث افزایش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار ۱ درصد گازوییل و گازوییل + باکتری K نسبت به شاهد شد که البته این مقدار در رقم ۶۴۰ بیشتر بود، اما در تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. این نتایج نشان‌دهنده تعدیل اثر تنش گازوییل با اضافه کردن باکتری‌های تجزیه‌کننده

Archive of SID

www.SID.ir

است. افزایش بیشتر میزان مالون‌دی‌آلدئید به دلیل صدمه غشا ناشی از تنش گازوییل در رقم ۶۴۰ نشان‌دهنده اثر بیشتر تنش در این رقم نسبت به رقم ۷۰۴ است. محتوای آنتوسیانین در همه تیمارها در هر دو رقم تفاوت معنی داری نسبت به شاهد داشت. تنش اعمال شده موجب افزایش معنی‌دار غلظت پروتئین در ذرت شد که این تفاوت در هر دو رقم تقریباً اثر یکسانی داشت. افزایش مقدار پروتئین و محتوای آنتوسیانین در گیاه در جهت مقابله با تنش ایجاد شده بوده است و با افزودن باکتری‌های تجزیه کننده اثر منفی تنش اعمال شده تا حدودی تعدیل شد.

پژوهشگران دیگری نیز در مطالعات خود روی گیاهان دیگر به نتایج مشابه با تحقیق حاضر روی گیاه ذرت رسیدند. برای نمونه، Bengough (۲۰۰۳) نشان داد که وجود نفت‌های سنگینی نظیر آسفالتن در خاک‌های آلوده به نفت با تغییر ویژگی‌های خاک، موجب کندی طویل شدن ریشه‌های گیاهان می‌شود. همچنین، کمبود آب در خاک و ایجاد شرایط خشکی در خاک به دلیل خاصیت آبگریزی ترکیبات نفتی قابلیت دسترسی گیاهان به آب و مواد مغذی را کاهش می‌دهد. همچنین، در تحقیق دیگری که در زمینه گیاه‌پالایی انجام شده، مشخص شده است که زیست‌توده لگوم‌ها و گراس‌ها تحت تأثیر گازوییل، مقادیر کمتری را نسبت به تیمار شاهد (غیر آلوده) نشان داد و گیاهان تحت شرایط آلودگی نسبت به تیمار شاهد کوتاه‌تر بودند (Palmorth and Pichtel, 2002). این نتیجه نشان می‌دهد که آلودگی با گازوییل، میزان رشد و تولیدات گیاهی را کاهش می‌دهد. Lawlor و Cornic (۲۰۰۲) بیان کردند که کاروتنوییدها به عنوان رنگیزه کمکی مؤثرند و نقش‌های مهم دیگری همچون حفاظت از غشاهای تیلاکوئید و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها را نیز بر عهده دارند. علت کاهش رنگیزه‌ها را می‌توان به القای تجزیه شدن یا مهار سنتز آنها نسبت داد. یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها، تخریب آنها توسط گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است (Navari-Izzo *et al.*, 1990). کاهش فعالیت فتوسیستم II، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و مهار سنتز ATP همگی باعث می شود تا اکسیژن یک پذیرنده جایگزین برای الکترون‌های اضافی فتوسنتز باشد و تشکیل گونه‌های اکسیژن آزاد در کلروپلاست‌ها افزایش یابد (Lawlor and Cornic, 2002). افزایش میزان پروتئین در گیاهان تحت تنش به علت وجود دی اکسید گوگرد و نیتروژن در آلاینده هیدروکربنی نفت خام است که به منظور سمّ‌زدایی اکسید نیتروژن در برگ گیاهان ساخته می‌شوند (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007). از آن جا که مالون‌دی‌آلدئید به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود (Mittler, 2002)، افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و آنتوسیانین در گیاهان تیمار شده احتمالاً به دلیل افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی است (Nakano *et al.*, 2002).

در مورد تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده و هتروتروف پس از افزودن گازوییل به خاک، ابتدا روند کاهشی و سپس افزایشی مشاهده شد. روند کاهشی نشان می‌دهد که گازوییل اثر سمّی و مهاری روی جمعیت باکتری های خاک داشته است که با گذشت زمان با آلودگی گازوییلی تطابق یافته است و افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

ایجاد شده بیانگر این است که به تدریج جمعیت تجزیه‌کننده‌ها با آلودگی گازوییلی تطابق یافته است. در بررسی حاضر، با تیمار ۱ درصد گازوییل، تغییری در تعداد باکتری های تجزیه کننده مشاهده نشد اما میزان کل هتروتروف‌های خاک افزایش بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت. در تیمار گازوییل + باکتری K و تیمار گازوییل + باکتری‌های D، K و L، افزایش بیشتری در تعداد باکتری های تجزیه کننده نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد که بیانگر تجزیه بیشتر گازوییل در این تیمارها است. توانایی گیاه در تغییر برخی ترکیبات موجود در گازوییل می‌تواند به افزایش تحرک باکتری ها در ریشه و کاهش سمّیت این ترکیبات منجر شود (Meudec *et al*., 2006).

افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف و تجزیه کننده پس از آلودگی خاک به آلاینده‌های نفتی توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است. برای نمونه، Phillips و همکاران (۲۰۰۸) در کشت گیاه یونجه در خاک آلوده به گازوییل، افزایش معنی‌دار باکتری‌های تجزیه‌کننده را در مقایسه با خاک غیرآلوده مشاهده نمودند. همچنین، نتایج مطالعات Margesin و همکاران (۲۰۰۰) در مورد روند تغییرات جمعیت باکتری‌های تجزیه کننده و هتروتروف نشان داد که پس از اضافه شدن ترکیبات نفتی شمار باکتری‌های تجزیه کننده افزایش می‌یابد. با توجه به افزایش میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز در ریزوسفر گیاه ذرت، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از باکتری K در فرآیند حذف آلایندگی گازوییلی با برهمکنش گیاه، کارآیی بالاتری نسبت به استفاده از مخلوط هر سه باکتری دارد.

جمع‌بندی

تغییراتی که آلودگی گازوییلی در شاخص‌های مورد بررسی در گیاه داشت نشان‌دهنده بروز تنش در گیاه است. نتایج پژوهش حاضر در مجموع نشان داد که تیمار گازوییل سبب کاهش رشد گیاه ذرت می شود و افزودن باکتری‌های تجزیه‌کننده این اثر کاهشی را بهبود می‌بخشد.

سپاسگزاری

نگارندگان از دانشگاه یاسوج به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر قدردانی می‌نمایند.

منابع

Bengough, A. G. (2003) Root ecology. Springer Heidelberg, Berlin.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Casida, L., Klein, D and Santoro, T. (1964) Soil dehydrogenase activity. Soil Science 98: 371-376.

Chaudhry, Q., Blom-Zandstra, M., Gupta, S. and Joner, E. J. (2005) Utilizing the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment. Environment Science Pollution Research 12: 34-48.

Egert, M. and Tevini, M. (2002) Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental and Experimental Botany 48: 43-49.

Archive of SID

www.SID.ir

Eman, A. D. (2008) Phytoremediation of oil contaminated soil using the rhizosphere effects. Global Journal of Enviromental Research 2(2): 66-73.

Hassanshahian, M., Ahmadinejad, M., Tebyanian, H. and Kariminik, A. (2013) Isolation and characterization of alkane degrading bacteria from petroleum reservoir waste water in Iran (Kerman and Tehran provenances). Marine Pollution Bulletin 73: 300-305.

Hassanshahian, M., Emtiazi, G. and Cappello, S. (2012) Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea. Marine Pollution Bulletin 64: 7-12.

Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Huang, X. D., El-Alawi, Y., Gurska, J., Glick, B. R and Greenberg, B. M. (2005) A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. Microchemical Journal 81: 139-147.

Kavousi Bafti, M., Asrar, Z., Hassanshahian, M. and Keramat, B. (2014) A study of the effects of crude oil pollution and oil-degrading bacteria on some biochemical and growth factors of *Zea mays*. Iranian Journal of Plant Biology 21: 71-84 (in Persian).

Ke, L., Wang, W. Q., Wong, Y. S. and Tam, N. F. (2003) Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. Chemosphere 51: 25-34.

Kvesitadze, G., Khatisashvili, G., Sadunishvili, T. and Ramsden, J. (2006) Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants basis of phytoremediation. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Lawlor, D. W. and Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant, Cell and Environment 25: 275-294.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymolology 148: 350-382.

Liu, H., Weisman, D., Yuan-bei, Y., Cui, B., Huang, Yan-he., Colo n-Carmonac, A. and Wang, Z. (2009) An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in Arabidopsis thaliana. Plant Science 176: 375-382.

Luepromchai, E., Lertthamrongsak, W., Pinphanichakarn, P., Thaniyavarn, S., Pattaragulwanit, K. and Juntongjin. K. (2007) Biodegradation of PAHs in petroleum-contaminated soil using tamarind leaves as microbial inoculums. Science and Technology 29(2): 515-527.

Margesin, R., Schinner, F. and Zimmerbauer, A. (2000) Monitoring of bioremediation by soil biological activities. Chemosphere 40: 339-345.

Meudec, A., Dussauze, J., Deslandes, E. and Poupart, N. (2006) Evidence for bioaccumulation of PAHs within internal shoot tissues by a halophytic plant artificially exposed to petroleum-polluted sediments. Chemosphere 65: 474-481.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science 7(9): 405-410.

Nakano, R., Inoue, S., Kubo, Y. and Inaba, A. (2002) Water stress-induced ethylene in the calyx triggers autocatalytic ethylene production and fruit softening in Tonewase persimmon grown in a heated plastic-house. Postharvest Biology and Technology 25: 293-300.

Navari-Izzo, F., Quartacci, M. F. and Izzo, R. (1990) Water-stress induced changes in protein and free amino acids in field grown maize and sun flower. Plant Physiology and Biochemistry 28: 531-537.

Njoku, K. L., Akinola, M. O. and Oboh, B. O. (2008) Growth and performance of *Glycine max* L.

Archive of SID

www.SID.ir

(Merrill) grown in crude oil contaminated soil augmented with cow dung. Life Science Journal 5(3): 89-93.

Palmorth, R. T. and Pichtel, J. (2002) Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. Bioresource Technology 84: 221-228.

Peretiemo-Clarke, B. O. and Achuba, F. I. (2007) Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. Plant Pathology 6(2): 179-182.

Phillips, L., James, J. Germida, F. and Charles, W. (2008) Hydrocarbon degradation potential and activity of endophytic bacteria associated with prairie plants. Soil Biology and Biochemistry 40: 3054-3064.

Pradhan, S. P., Conrad, J. R., Paterek, J. R. and Srivastava, V. J. (2003) Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites. Journal of Soil Contamination 7(4): 467-480.

Rahman, K. S. M., Thahira-Rahman, J., Lakshmanaperumalsamy, P. and Banat, I. M. (2004) Towards efficient crude oil degradation by a mixed bacterial consortium. Bioresource Technology 85(3): 257-261.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology 64: 88-93.

Archive of SID

www.SID.ir

A survey of the effect of synergism between rhizosphere and diesel-degrading bacteria on some growth and biochemical factors of *Zea mays* in diesel polluted soils

Nahid Dindar [1], Ahmad Mohtadi [1]* and Mehdi Hassanshahian [2]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Yasouj University, Yasouj, Iran
[2] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Archive of SID

Abstract

Soil pollution by oil compounds is one of the most common environmental problems that induce oxidative stress in plants. In this research, for investigate the synergism between soil rhizosphere and diesel degrading bacteria on some growth and biochemical factors of *Zea mays* (640 and 704) in diesel polluted soils, four different treatments were designed. Various physiological and microbial factors were assayed. The results showed that root and shoot length and total chlorophyll in presence of treatments in both varieties of *Z. mays* were significantly decreased in comparing to the control plants. Stress caused a significant increase in carotenoids and malondialdehyde contents in diesel treatment and diesel and *Peseudomonas fragi* bacteria treatment in comparing to control in both varieties. The anthocyanin content and protein were significantly increased in comparing to control. This stress caused an increase in the numbers of degrading and heterotrophic bacteria and dehydrogenase enzyme. Therefore, we can say that diesel treatment decreased the growth of *Z. mays* and adding the degrading bacteria improved diesel depressing effect on plant growth.

Key words: Oil pollution, Oxidative stress, *Peseudomonas*, *Zea mays*, Diesel

* Corresponding Author: a.mohtadi@yu.ac.ir

www.SID.ir