

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

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 گازوئیل بر برخی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی دو رقم ذرت (۶۴۰ و ۷۰۴) در خاک‌های آلوده به گازوئیل، 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 کارتنوئید و مالون‌دی‌آلدئید، در تیمار گازوئیل و همچنین تیمار گازوئیل و باکتری *Pseudomonas 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 گازوئیل سبب کاهش رشد گیاه ذرت شد و افزودن باکتری‌های تجزیه‌کننده اثر کاهشی تیمار گازوئیل بر رشد گیاه را بهبود بخشید.

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

مقدمه

یکی از متداول‌ترین گروه‌های آلاینده آلی پایدار در محیط هستند (Huang et al., 2005). ورود ترکیبات نفتی به درون خاک می‌تواند با تغییر ویژگی‌های

آلودگی خاک به ترکیبات نفتی یکی از شایع‌ترین معضلات زیست محیطی است. هیدروکربن‌های نفتی

(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 اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود (Mittler, 2002). افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان بیمار شده احتمالاً به دلیل افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی است (Nakano *et al.*, 2002). در کلروپلاست‌ها، کارتنوئیدها 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 باکتری‌های 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 تجزیه‌کننده‌های مؤثر آلاینده‌های نفتی و مشتقات آنها هستند. این گروه از باکتری‌ها قادرند بیش از ۱۰۰ نوع ترکیب

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 لیوفیل 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: تاج‌خروس، 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 میکروارگانیزم‌های خاک، به تجزیه آلاینده‌های آلی پایدار کمک می‌کند (Luepromchai *et al.*, 2007). حذف ترکیبات نفتی از خاک در گیاه‌پالایی، غالباً به میکروارگانیزم‌هایی که در ریزوسفر، تحت تأثیر ریشه گیاه زندگی می‌کنند، نسبت داده می‌شود

گروه دوم به میزان ۱ درصد وزنی / وزنی گازوئیل به یک کیلوگرم خاک اضافه شد و دانه‌رُست‌ها در آنها کشت گردید. در گروه سوم علاوه بر افزودن ۱ درصد گازوئیل به خاک، بافر حاوی باکتری کشت داده شده *Pseudomonas fragi* نیز به خاک اضافه شد. در گروه چهارم علاوه بر ۱ درصد گازوئیل مخلوط سه باکتری: *Achromobacter denitrificans*، *P. fragi* و *Pseudomonas aeruginosa* 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*، *Pseudomonas 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 برات (شرکت Merck، آلمان) کشت داده شدند تا کدورت نوری آنها در ۶۰۰ نانومتر به ۰/۵ برسد که این کدورت نوری معادل ۱۰^۸ باکتری در هر گرم خاک است. در مرحله بعد،

سمی را تجزیه کنند. آکروموباکترها جزو باکتری‌های گرم منفی، میله‌ای و متحرک هستند که به طور اختصاصی می‌توانند گازوئیل 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 باکتری‌های فوق در پژوهش حاضر از آن جهت بود که این باکتری‌ها قابلیت تجزیه مؤثر برخی از ترکیبات نفتی به ویژه گازوئیل 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 گازوئیل بر برخی شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی گیاه ذرت و همچنین اثر متقابل گازوئیل و باکتری تجزیه‌کننده بر شاخص‌های بیوشیمیایی آن و در نهایت، برهمکنش بین این گیاه و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوئیل 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 گازوئیلی و بدون افزودن باکتری آماده شد که در هر گلدان چهار دانه رُست ذرت ۵ روزه کشت گردید. در

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 کارتنوئید

با روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد.

غلظت مالون‌دی‌آلدئید: میزان مالون‌دی‌آلدئید

(MDA) روش Heath و Packer (۱۹۶۹)

اندازه‌گیری شد. بر پایه این روش، ۰/۲ گرم از بافت تازه گیاه (برگ و ساقه) با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلورو 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 تری‌کلورو استیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک 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 $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید.

باکتری‌های 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 باکتری‌ها در خاک انجام شد بدین صورت که برای کشت باکتری‌های 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).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: ابتدا گیاهان ۲۸

روزه ذرت به دقت از خاک خارج و به آرامی زیر آب

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 باکتری‌های تجزیه‌کننده و

هتروتروف: تعداد باکتری‌های 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 گازوئیل به عنوان منبع کربن تعیین گردید (Rahman et al., 2004).

تحلیل داده‌ها: پژوهش حاضر در قالب طرح

آماري 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.

آنتوسیانین: محتوای آنتوسیانین اندام هوایی با

روش Wagner (۱۹۷۹) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاهان با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) در هاون چینی کاملاً ساییده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار 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 بالای در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی $33000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارائه 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 دی‌آمین تترا 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 روی 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 میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره

نتایج

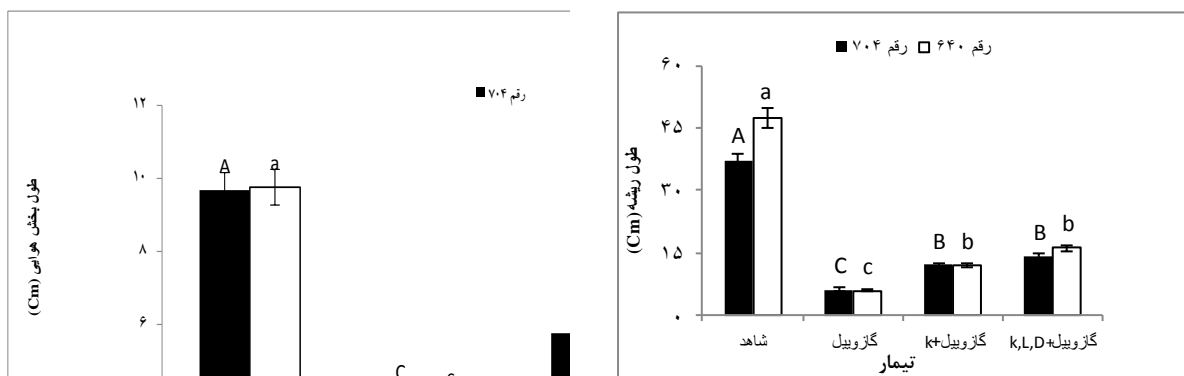
و بخش هوایی مشاهده نشد.

کلروفیل کل در گیاه ذرت ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰ در تیمار ۱ درصد گازوئیل به ترتیب کاهش معنی‌داری به میزان ۲۵/۵۵ و ۶۳/۴۵ درصد را نسبت به گیاه شاهد نشان داد و در تیمار گازوئیل + باکتری K به ترتیب کاهش معنی‌دار ۱۷/۷۱ و ۴۱/۸۹ درصدی نسبت به گیاه شاهد نشان داد. همچنین، در تیمار گازوئیل + 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).

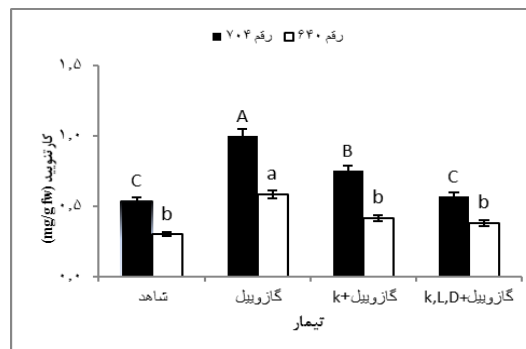
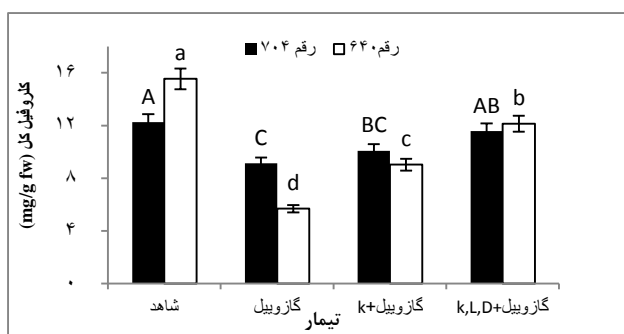
در میزان کاروتنوئید در رقم ۷۰۴ و ۶۴۰ در تیمار ۱ درصد گازوئیل نسبت به شاهد به ترتیب افزایش معنی‌دار ۸۵/۹۸ و ۹۵/۱۰ درصدی مشاهده شد و در تیمار گازوئیل + باکتری K به ترتیب افزایش ۴۰/۱۸ و ۳۹/۶۳ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۲).

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

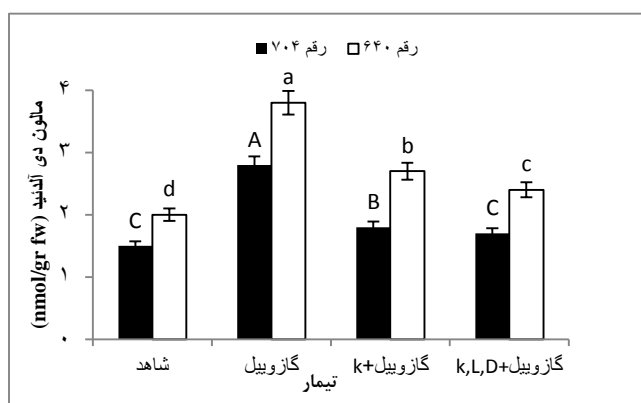
آلودگی با گازوئیل باعث کاهش معنی‌دار ۸۳/۲۸، ۶۷/۶۵ و ۶۲/۱۲ درصدی طول ریشه گیاه ذرت رقم ۷۰۴ به ترتیب: در تیمار ۱ درصد گازوئیل، تیمار گازوئیل + باکتری K و تیمار گازوئیل + باکتری‌های D، K و L نسبت به گیاه شاهد (خاک بدون گازوئیل و بدون باکتری‌های تجزیه‌کننده) شد. این تنش، در رقم ۶۴۰ به ترتیب کاهش معنی‌دار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



شکل ۱- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوئیل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوئیل (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 \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.



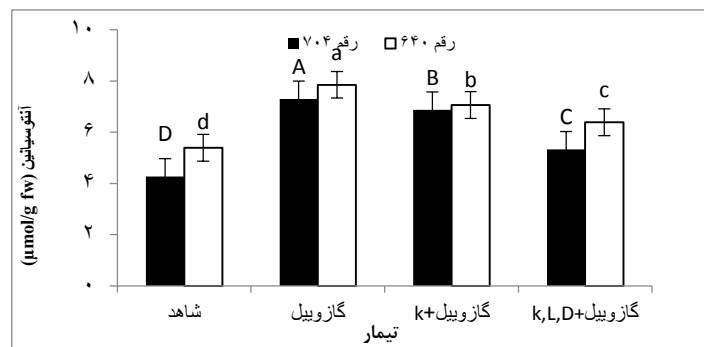
شکل ۲- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوئیل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوئیل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر میزان کلروفیل کل و کارتنوئید در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.



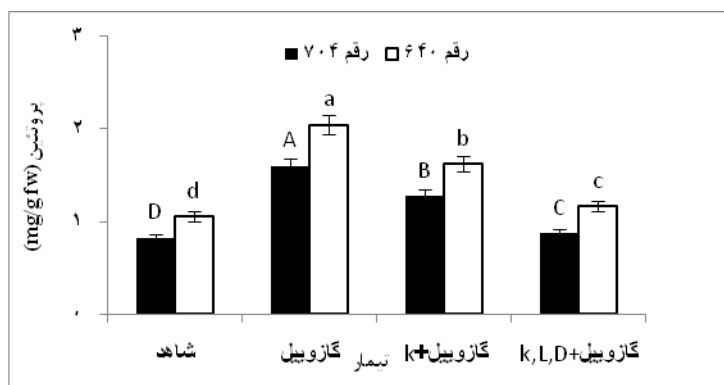
شکل ۳- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوئیل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوئیل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

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).

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



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 \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

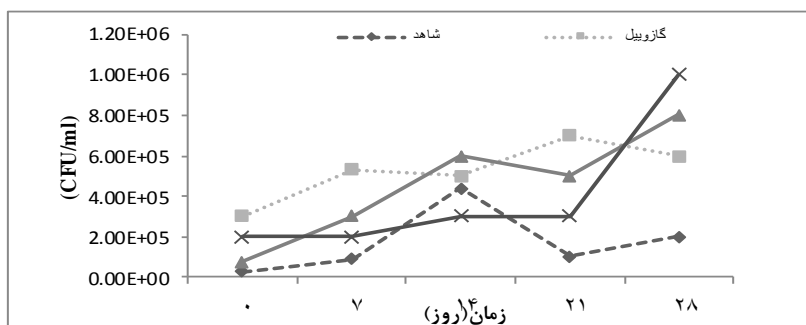


شکل ۵- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های D، K و L) به مدت ۲۸ روز بر مقدار پروتئین در گیاه *Zea mays* ارقام ۷۰۴ و ۶۴۰. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

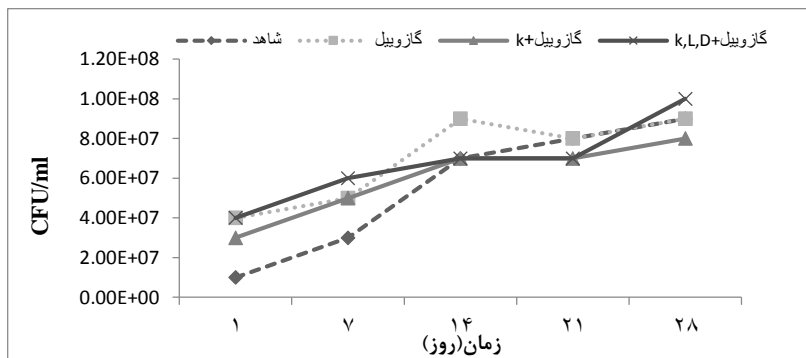
پژوهش حاضر نیز به طور جداگانه برای هر دو رقم شمارش انجام شد، اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، بنابراین در ادامه کار شمارش فقط برای یک رقم انجام شد.

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 گازوبیل + باکتری‌های *D*، *K* و *L* نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود، به طوری که در انتهای زمان آزمایش (روز ۲۸ ام) به $1/00 E+08$ رسید.

همان طور که در شکل ۶ نشان داده شده است، تعداد باکتری‌های *D*، *K* و *L* در تیمارهای: شاهد، گازوبیل + باکتری *K* و گازوبیل + باکتری‌های *D*، *K* و *L* افزایش معنی‌داری داشته است. اما در تیمار گازوبیل ۱ درصد روند افزایشی مشاهده نشد. تعداد باکتری‌ها در تیمار گازوبیل + 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 $1/00 E+06$ 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



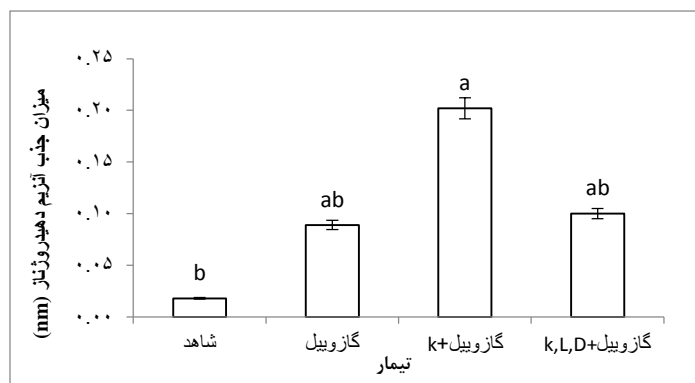
شکل ۶- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوبیل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوبیل (*D*، *K* و *L*) در بازه‌های زمانی ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بر تغییرات تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده (CFU) در ریزوسفر گیاه *Zea mays*



شکل ۷- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوبیل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوبیل (*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*

به شاهد نشان داد، اما در تیمار ۱ درصد گازوییل و تیمار گازوییل + باکتری‌های K، D، L افزایش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد مشاهده نشد.

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



شکل ۸- تأثیر آلودگی تیمار ۱ درصد گازوییل و باکتری‌های تجزیه‌کننده گازوییل (باکتری‌های 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 \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. مقایسه برای هر رقم ذرت جداگانه انجام شده است.

افزودن باکتری‌های تجزیه‌کننده اثر منفی تیمار گازوییل بر شاخص‌های رشد را بهبود می‌بخشد. بر اساس نتایج به دست آمده، با کاهش کلروفیل، کاروتنوئید افزایش یافته است. این افزایش، در تیمار گازوییل + باکتری‌های K، D، 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 K، D، L تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. این نتایج نشان‌دهنده تعدیل اثر تنش گازوییل با اضافه کردن باکتری‌های تجزیه‌کننده

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 کاروتنوئید، پروتئین، آنتوسیانین و مالون‌دی‌آلدئید گردید که بیانگر تنش اکسیداتیو در گیاه است. آلودگی گازویلی ایجاد شده کاهش معنی‌داری را در اندازه طول ریشه و بخش هوایی نسبت به گیاه شاهد در تیمارهای ۱ درصد گازوییل، گازوییل + باکتری K و گازوییل + باکتری‌های K، D، L داشت. به طوری که بیشترین تفاوت معنی‌دار 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 تنش‌های اعمال شده کاهش معنی‌داری دارد و

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 رویسکو و مهار سنتز ATP همگی باعث می‌شود تا اکسیژن یک‌پذیرنده 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 دی‌اکسید گوگرد و نیتروژن در آلایندگی هیدروکربنی نفت خام است که به منظور سم‌زدایی 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 گازوئیل به خاک، ابتدا روند کاهش و سپس افزایشی مشاهده شد. روند کاهش نشان می‌دهد که گازوئیل اثر سمی و مهاری روی جمعیت باکتری‌های خاک داشته است که با گذشت زمان با آلودگی گازوئیلی تطابق یافته است و افزایش

است. افزایش بیشتر میزان مالون‌دی‌آلدئید به دلیل صدمه غشای ناشی از تنش گازوئیل 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 معنی‌داری 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 تجزیه‌کننده 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 گازوئیل، 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 گازوئیل، میزان رشد و تولیدات گیاهی را کاهش می‌دهد. Lawlor و Cornic (۲۰۰۲) بیان کردند که کاروتنوئیدها به عنوان

Margesin و همکاران (۲۰۰۰) در مورد روند تغییرات جمعیت باکتری‌های تجزیه‌کننده و هتروتروف نشان داد که پس از اضافه شدن ترکیبات نفتی شمار باکتری‌های تجزیه‌کننده 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 آلاینده‌گی گازویلی با برهمکنش گیاه، کارآیی بالاتری نسبت به استفاده از مخلوط هر سه باکتری دارد.

جمع‌بندی

تغییراتی که آلودگی گازویلی 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 می‌شود و افزودن باکتری‌های تجزیه‌کننده این اثر کاهشی را بهبود می‌بخشد.

سپاسگزاری

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

ایجاد شده بیانگر این است که به تدریج جمعیت تجزیه‌کننده‌ها با آلودگی گازویلی تطابق یافته است. در بررسی حاضر، با تیمار ۱ درصد گازوییل، تغییری در تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده مشاهده نشد اما میزان کل هتروتروف‌های خاک افزایش بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت. در تیمار گازوییل + باکتری K و تیمار گازوییل + باکتری‌های K، D، L و افزایش بیشتری در تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده 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 باکتری‌ها در ریشه و کاهش سمیت این ترکیبات منجر شود (Meudec et al., 2006).

افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف و تجزیه‌کننده 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 غیر آلوده مشاهده نمودند. همچنین، نتایج مطالعات

منابع

- Bengough, A. G. (2003) Root ecology. Springer Heidelberg, Berlin.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities 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.

- Eman, A. D. (2008) Phytoremediation of oil contaminated soil using the rhizosphere effects. *Global Journal of Environmental 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 Enzymology* 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.

- (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.

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 Dindar¹, Ahmad Mohtadi^{1*} and Mehdi Hassanshahian²

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

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 *Pseudomonas 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, *Pseudomonas*, *Zea mays*, Diesel

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