اثر نفتالین بر جوانه‌زنی دانه و فاکتورهای رشد دانه‌رست در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*)

بنفشه معماریان، مریم خوش سخن مظفر*، فاطمه جمالو

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۲۹)

چکیده

نفتالین از اصلی‌ترین هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای است که روزبه‌روز در صنعت پتروشیمی رو به افزایش است و در فهرست آلوده‌کننده‌های سمی اصلی قرار دارد. این آلودگی‌ها جهش زا هستند و تأثیر گسترده بر اکوسیستم منطقه دارند. با گذشت زمان به چرخه غذایی و جوامع انسانی نیز راه می‌یابند. به این ترتیب سلامت انسان، گیاهان، جانوران، رودخانه ها، آب‌های زیرزمینی و تولیدات کشاورزی را تهدید می‌کنند. جوانه‌زنی اولین و مهم‌ترین مرحله رویش گیاه است. در این پژوهش به منظور بررسی تأثیر نفتالین با غلظت‌های ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، بر جوانه‌زنی ، رشد ریشه‌چه و وزن خشک و تر دانه‌رست در *Helianthus annus* L. از خانواده Asteraceae، بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که نفتالین بر قدرت جوانه زنی تأثیر معنی داری ندارد. طول ریشه چه را کاهش میدهد و همچنین باعث کاهش وزن خشک و تر دانه‌رست می‌شود. بنابراین نفتالین با ساختار غیرقطبی و آب‌گریز خود باعث کم کردن سرعت جذب آب می‌شود و بر سرعت جوانه‌زنی تأثیر می‌گذارد و در نتیجه‌ی همین عامل طول ریشه‌چه و زیست‌توده دانه رست را کاهش می‌دهد.

کلیدواژگان

جوانه‌زنی، زیست‌توده، گیاه آفتابگردان، نفتالین.

* نویسنده مسئول، رایانامه: m-khoshsokhan@qom-iau.ac.ir

مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) از جمله آلاینده‌های محیطی هستند که از احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی، رنگ‌های پلاستیک و آفت کش‌ها و... ایجاد می‌شوند (۱). سمی بودن PAHs برای گیاهان به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۲، ۳). حضور PAHs در گیاهانی که در داخل یا خارج از مناطق صنعتی رشد داده شده اند، نشان داده است که PAHs ترکیبات بسیار مضری هستند که مزاحم فرایندهای تکوینی و فیزیولوژیکی گیاه می‌شوند، این ترکیبات باعث کاهش رشد ریشه و ساقه، تغییر شکل کرک ها، اختلال در رشد تارهای کشنده، کلروزیز، تاخیر در گلدهی، و پدیدار شدن نقطه‌های سفید رنگ روی برگ نمایان می‌شود همچنین در سطح بافت‌ها و سلول‌ها نیز گیاه از فشار اکسیداتیو رنج می‌برد (۴). بر اساس نتایج لین و همکاران (۲۰۰۶)، جابه جایی PAHs مانند فنانترین و پیرن، توسط جریان اپوپلاستی از طریق دیواره‌های مختلف سلولی انجام می‌شود و تنها حجم کوچکی از ترکیب، در واکوئل‌های سلولی با جابجایی سیمپلاستی منتقل می‌شود (۵).

نفتالین با فرمول شیمیایی C10H8، جرم مولکولی ۱۲۸,۱۷، نقطه جوش ۲۱۷,۹ درجه سانتیگراد، نقطه ذوب ۸۰,۲ درجه سانتیگراد، یکی از PAHs است (۶). نفتالین ماده‌ای سفید و جامد است که به طور طبیعی در سوخت‌های فسیلی یافت می‌شود.

مرحله جوانه‌زنی یک فاکتور مهم در حفظ اکوسیستم‌های خود کفا برای آبادسازی اراضی است. به‌هنگام جوانه‌زنی گیاه بطور ویژه‌ای به تنش‌های محیط حساس است. همچنین رشد و فیزیولوژی دانه رست در شرایط تنش تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۷).

تحقیقات نشان داده ترکیبات آروماتیکی چند حلقه‌ای در غلظت‌های ۰/۰۲ تا ۲ میکرومولار باعث کاهش جوانه زنی در گیاهان لوبیا، خردل و گندم می‌گردد (۸).

Heidari و همکاران درسال ۲۰۱۳ اثر آبیاری با آب آلوده به مواد شوینده را بر جوانه‌زنی و رشد گیاه آفتابگردان بررسی نموده و نتیجه گرفتند مواد شوینده درغلظت‌های بالا (۲ و۲۰ گرم برلیتر) موجب کاهش جوانه‌زنی بذر، تحمل بذر، ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، زیست‌توده ساقه درآفتابگردان می‌شوند (۹).

Arunima و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر فلزات سنگین را در زیست‌توده خشک ریشه وشاخه‌هایی از کلزا وآفتابگردان بررسی کردند و نتیجه گرفتند اگرچه از دست دادن زیست‌توده خشک ریشه و ساقه در کلزا وآفتابگردان در غلظت 50ppm از Cd و As وجود دارد اما آن‌ها می‌توانند در غلظت 50ppm این فلزات رشد کنند وزنده ماندن آنها دلالت بر این دارد که آن‌ها می‌توانند برای گیاه پالایی از این فلزات سنگین استفاده کنند (۱۰).

Noreen and Ashraf در سال ۲۰۰۸ بابررسی اثرات سوء تنش شوری بر روی آفتابگردان با اضافه کردن اسید سالیسیلیک بر رشد و فتوسنتز نتیجه گرفت که تنش شوری باعث کاهش قابل توجهی دروزن تر و خشک ساقه آفتابگردان می‌شود. با این حال ساقه تازه و وزن خشک با توجه به اضافه کردن اسید سالیسیلیک هم درشرایط استرس هم در شرایط عدم استرس بسیار افزایش یافت (۱۱).

جعفری و همکاران در سال ۱۳۹۴ اثر آنتراسن را بر جوانه زنی گیاه یونجه بررسی کردند و نتیجه گرفتند که با تأثیر آنتراسن با غلظت‌های ۲ و ۴ میلی مولار بر مراحل مختلف نموی (در بذر، دانه رست، رویشی) گیاه یونجه ، این ماده شیمیایی بر فعالیت آنزیم آمیلاز و به دنبال آن درصد جوانه زنی تأثیر آنچنانی ندارد (۱۲).

گیاه آفتابگردان با نام علمی *Helianthus annus* L. از خانوادهٔ Asteraceae گیاهی یک ساله و دارای ساقهٔ راست، خشن، و به ارتفاع دو متر (گاهی بیشتر) که به عنوان زینتی و یا استفاده از دانه‌های روغنی آن پیوسته در سطح پهناوری از کشورهای مختلف پرورش می‌یابد. آفتابگردان برگ‌های منفرد به شکل قلب و پوشیده از کرک با کنارهٔ دندانه دار دارد. میوهٔ آن فندقه نسبتاً بزرگ، بیضوی، دارای دو برجستگی به رنگ تیره یا بنفش مایل به سیاه و دانه‌ی آن روغن‌دار و دارای طعم مطبوع است. مغز درون میوه که ۵۰٪ وزن کلی آن را تشکیل می‌دهد، ۴۵ تا ۴۸ درصد مواد چرب دارد (۱۳).

در این پژوهش ، تأثیر غلظت‌های نفتالین بر جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و وزن خشک و تردانه‌رست‌های گیاه آفتابگردان بررسی شد تا مقاومت این گیاه در مرحله جوانه‌زنی در محیط آلوده به نفتالین ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه و کشت دانه رست

بذرهای گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) از شرکت دانه‌های روغنی قم در تیر ماه ۹۵ تهیه شد. بذرها توسط اتانول ۷۰٪ به‌مدت دو دقیقه و سپس با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت پنج دقیقه ضدعفونی سطحی و سپس به دفعات با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از ضدعفونی و شسته شدن، در گروه‌های شاهد، و تیمار با ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۴) نفتالین قرار گرفتند. نمونه‌ها در ۴ تکرار، در پتری دیش‌های حاوی ۱۰ بذر در تاریکی در دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه جوانه زدند و روزانه در طول یک هفته از نظر درصد جوانه زنی، بررسی شدند. همچنین در انتهای روز هفتم طول ریشه چه و وزن خشک و تر ساقه چه و ریشه چه مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه گیری طول ریشه چه

در روز هفتم طول ریشه چه‌ها در۴ تکرار که هرکدام شامل ۱۰ بذر جداگانه بود، با کولیس اندازه گرفته شده و پس از گرفتن میانگین نسبت به گروه کنترل مقایسه گردید.

اندازه گیری وزن خشک و تر

در روز هفتم، ابتدا وزن تر ریشه‌چه دانه‌رست‌ها با ترازوی با دقت یک ده هزارم وزن گردید، سپس هر تکرار به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای۱۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا رطوبت خود را از دست بدهد، آنگاه نمونه‌ها با همان ترازو وزن گردید و به عنوان وزن خشک در نظر گرفته شد.

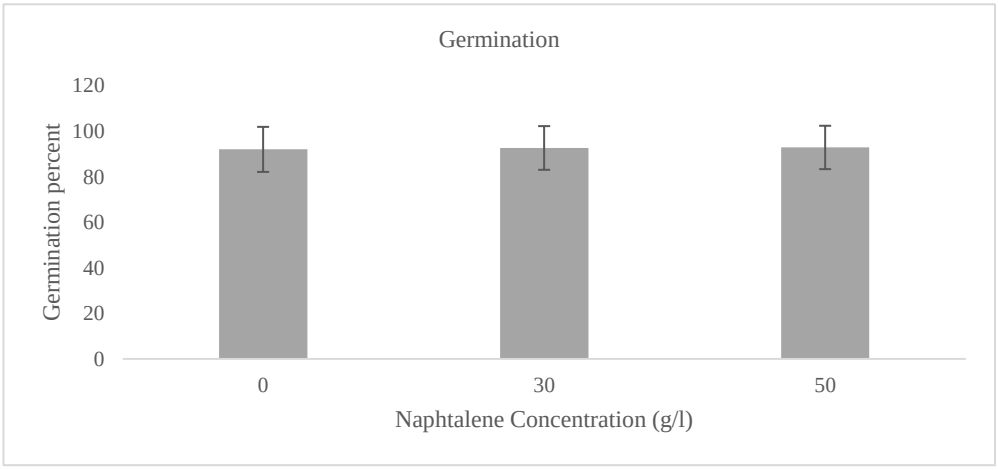
آنالیزهای آماری

کلیه آنالیزها با چهار تکرار مستقل انجام گرفت و سپس نتایج به دست آمده از گروه‌ها به کمک نرم افزار SPSS و انجام تست Tukey مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از نرم‌افزار Excel داده‌ها تحلیل و نمودارهای مربوطه رسم شد. همچنین میزان معنی‌داری آن‌ها در سطح احتمال$p\leq0.05$ بررسی شد.

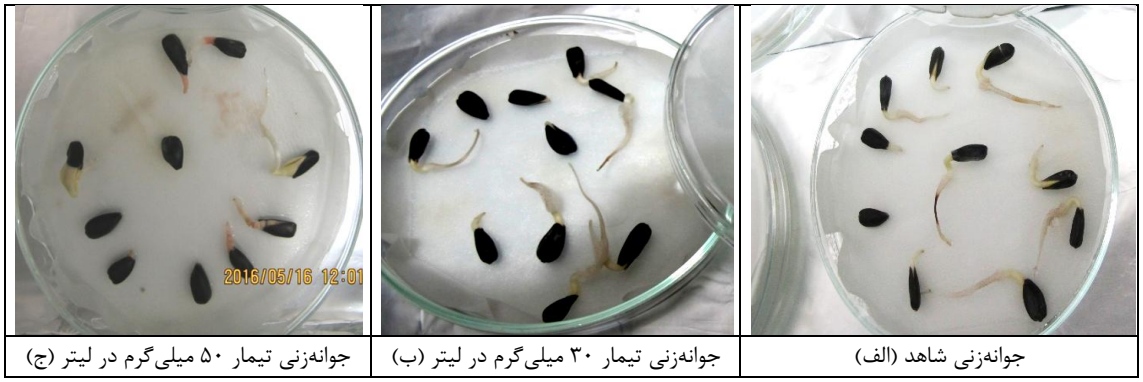
نتایج

بررسی تأثیر نفتالین بر میزان جوانه زنی *Helianthus annus* L.

همان گونه که در شکل ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد، با تأثیر نفتالین، میزان جوانه زنی در بذر گیاه *Helianthus annus* L. نسبت به گروه شاهد تغییری نکرده و در سطح $p\leq0.05$ ، تفاوت معنی‌داری پیدا نمی‌کند.



شکل ۱- درصد جوانه زنی بذرهای آفتابگردان در تیمارهای ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نفتالین نسبت به گروه شاهد. داده‌ها میانگین ٤ تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد. معنی داری در سطح $p\leq0.05$ درنظر گرفته شده است.

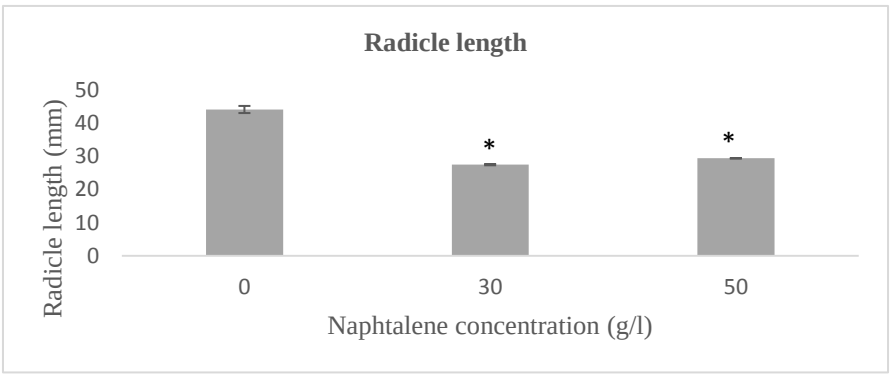


جوانه‌زنی شاهد (الف)	جوانه‌زنی تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر (ب)	جوانه‌زنی تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر (ج)

شکل ۲- درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه در گروه شاهد (الف)، تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین (ب) و تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین (ج)

بررسی تأثیر نفتالین بر طول ریشه چه

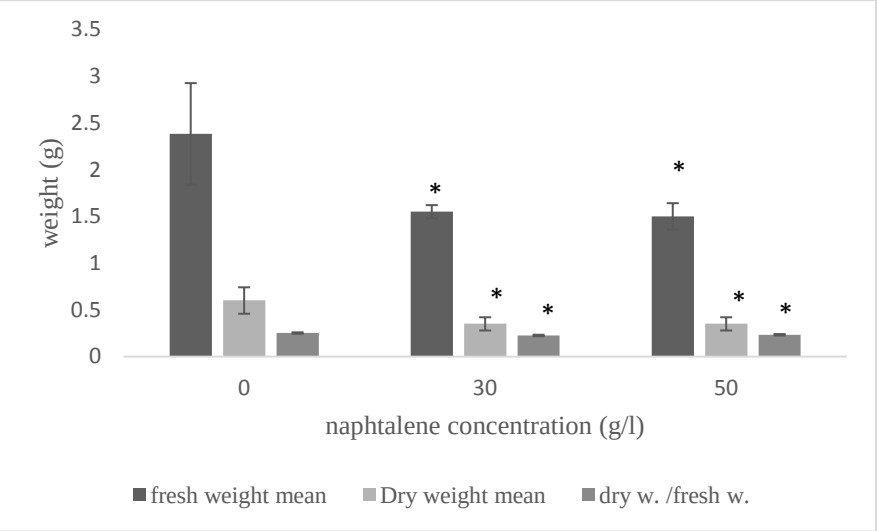
همان طور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد، طول ریشه‌چه در تیمارهای ۳۰ و۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به گروه شاهد کاهش یافته و این کاهش در سطح $p\leq0.05$ معنی دار می‌باشد.



شکل۳- طول ریشه‌چه در تیمارهای ۳۰ و۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین نسبت به گروه شاهد. داده‌ها، میانگین ٤ تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد. معنی‌داری در سطح $p\leq0.05$ در نظر گرفته شده است. معنی‌داری گروه‌ها نسبت به شاهد با علامت * نشان داده شده است.

بررسی تأثیر نفتالین بر زیست توده ساقه‌چه

همان‌گونه که در شکل۴ مشاهده می‌گردد، میزان تفاوت میانگین وزن تر و خشک و نسبت وزن خشک به ترساقه‌چه، در هر دو تیمارهای ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین کاهش پیدا کرده است. این معنی‌داری در سطح $p\leq0.05$ می‌باشد.



شکل ٤- وزن خشک و ترساقه‌چه و نسبت این دو، در تیمارهای ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین نسبت به گروه شاهد، داده‌ها میانگین ٤ تکرار و میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد. داده‌ها در سطح $p\leq0.05$ معنی داری می‌باشند (*).

بحث

جوانه‌زنی اولین مرحله از رشد گیاه است که به تنش‌ها بسیار حساس است و تا حدی نشان‌دهنده اثر شرایط مطلوب یا نامطلوب محیط بر گیاه می‌باشد (۷). محققان گزارش کرده‌اند جلوگیری از جوانه‌زنی دانه و کاهش رشد جوانه به دنبال آلودگی نفتی به غلظت و گونه گیاهی وابسته است (۱۵)، همچنین لایه گازوئیلی پوشاننده سطح بذر، مرز ی فیزیکی را ایجاد و از دسترسی بذر به آب و اکسیژن جلوگیری می‌کند و از این طریق، سبب تأخیر در جوانه زنی و مرگ جنین می‌شود (۱۶).

دراین تحقیق اثر ماده شیمیایی نفتالین (یک هیدروکربن حلقوی آروماتیک) در دو غلظت ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بر میزان جوانه‌زنی بررسی شد و با توجه به نتایج بدست آمده، نفتالین تأثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذر آفتابگردان نداشت (۱۷و ۱۸). شاید بتوان گفت که این هیدرو کربن حلقوی در مرحله اول رشد برای گیاه چندان خطرناک نیست هر چند که تیمار از سرعت جوانه‌زنی می‌کاهد.

با تأثیر تیمار نفتالین طول ریشه‌چه کاهش یافت که حاکی از اثر بازدارنده نفتالین در جذب آب توسط بذر می‌باشد. با تأثیر نفت خام (با غلظت‌های ۲٪، ۴٪، ۶٪ و ۸٪ وزنی/وزنی) بر بذرهای اقاقیا (۱۶) نیز نشان داده شد طول ریشه چه متناسب با غلظت نفت خام کاهش می‌یابد. Adam و همکاران سوخت‌های دیزلی را بر منتخبی از دانه گیاهان مختلف تأثیر دادند. نتایج آنها نشان داد بذرها در مجاورت این تیمار کندتر جوانه می‌زنند و در نتیجه طول دانه‌رست کاسته می‌شود (۱۹). همچنین در تحقیق دیگری با تأثیر هیدروکربن‌ها بر چندین گیاه مختلف (گندم، جو، ذرت، کاهو، آفتابگردان، لوبیا و شبدر) مشخص شد که خواص هیدروفوبیک مواد نفتی، توانایی رطوبتی

رسوبات را کاهش داده و بنابراین، آب و مواد غذایی در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرد (۲۰).

به دنبال کاهش طول ریشه‌چه در دانه رست‌های گیاه آفتابگردان، در اثر تیمار نفتالین وزن خشک و تر ریشه‌چه و ساقه‌چه در دانه‌رست‌ها کاهش می‌یابد. در واقع نفتالین با وجودی که اثر محسوسی بر درصد جوانه‌زنی بذرهای آفتابگردان ندارد ولی طول دانه‌رست را کم می‌کند و از میزان وزن خشک آنها می‌کاهد. محققان علت این کاهش را، خواص آب گریزی 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 *(۲۱ و ۲۲)*. Ahmadi و همکاران (۲۰۱۳) اثر چهار غلظت آنتراسن را بر روی سه واریتهٔ جو، ماشک، و سورگوم مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که افزایش آلودگی در هر سه واریته، کاهش نرخ رشد را به همراه داشته است (۲۳). هیدروکربن‌های پلی سیکلیک آروماتیک است یک اختلال تدریجی در متابولیسم و رشد و نمو گیاه ایجاد می‌کند و باعث کاهش زیست توده ریشه و کندسازی *جذب مواد غذایی می‌شود (۱۶)*.

Zhang در آزمایش بر گیاه Juncus subsecundus نتیجه گرفت تیمار نفتالین، فنانترن و پیرن با دوز بالا، میزان رشد، تعداد ساقه، ریشه، وزن خشک، و ریزوم را کاهش می‌دهد (۱۴). بطور خلاصه بذرهای گیاه آفتابگردان قادرند در محیطی با غلظت ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین جوانه بزنند، اما بدلیل تغییر پتانسیل اسمزی محلول آبی اطراف بذر، خاصیت آبگریزی و غیرقطبی نفتالین، میزان دسترسی به آب بذرها کاهش می‌یابد و جوانه‌زنی با سرعت کمتری نسبت به شاهد اتفاق می‌افتد. به‌دنبال این مساله طول ریشه‌چه و زیست توده دانه رست کاهش معنی داری پیدا می‌کند.

منابع و مآخذ

1. Ma, B., He, Y., Chen, H., Xu, J. and Rengel, Z. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the rhizosphere: synthesis through meta-analysis. Environ Pollut. 2010.158 855–861.

2. Sverdrup, L.E., Krogh, P.H., Nielsen, T., Kjaer, C. and Stenersen, J. Toxicity of eight polycyclic aromatic compounds to red clover (*Trifolium pratense*), ryegrass (*Lolium perenne*), and mustard (*Sinapsis alba*), Chemosphere. 2003. 53: 993–1003.

3. 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. 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. 2007. Batelle Press, Columbus.

4. Alkio, M., Tabuchi, T.M., Wang, X. and Carmona, A. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. J X B. 2005. 421: 2983- 2994.

5. Lin, D., Zhu, L., He, W. and Tu, Y. Tea Plant Uptake and Translocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Water and around Air. J Agri Food Chem. 2006. 54: 3658-3662.

6. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2002. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 82, Lyon, France.

7. Banks, M. K. and Schultz, K. E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. Water, Air and Soil Pollution. 2005.167: 211-219.

8. Banaszkiewicz, T., Szarek, J., Wysocki, K. Biological evaluation of soil contamination around a non-operating pesticide tomb. Polish J. of Environ. Stud. 2011.20: 485- 488.

9. Heidari, H. (2013) Effect of Irrigation with Contaminated Water by Cloth Detergent on Seed Germination Traits and Early Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). Not Sci Biol, 2007. 5(1):86-89.

10. Arunima et al. impact of heavy metals (cd and as) on dry biomass of roots & shoots of *Brassica juncea* and *Helianthus annuus*. Indian j.sci.res. 2013. 4 (1): 188-190.

11. Noreen, S. and Ashraf, M. Alleviation of Adverse Effects Of Salt Stress On Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) By Exogenous Application of Salicylic Acid: Growth And Photosynthesis. Pak. J. Bot., 2008. 40(4): 1657-1663.

12. Jafari, L., Khoshsokhan-Mozaffar, M., Vatankhah, E. The effect of anthracene on germination and some anatomical and physiological characteristics in alfalfa (*Medicago sativa* L.) in hydroponic culture. 2014. Master of science thesis. Qom branch, Islamic Azad university, Qom, Iran.

13. Rahimizadeh, M., Habibi, D., Madani, H., Mohammadi, G.N., Mehraban, A. and Sabet, A.M. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annus* L.) under drought stress. HELIA. 2007. 30: 167-174.

14. Zhang, Zh., Rengel, Z. and Meney, K. Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) differentially influence growth of various emergent wetland species. J Hazard Mater. 2010. 182 :689–695.

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

16. Askari Mehrabadi, M., Noori, M., Amini, F., Beigi, F. Evaluation of germination, growth and chlorophyll content of *Rubinia pseudoacacia* L. as affected by petroleum pollution. Journal of Plant Biology. 2011. 3 (7): 41-56.

17. Flocco C. G., Lobalbo A., Carranza M., Bassi M., Giulietti A. M. and Mak Cormack W. P. Some

physiological, Microbial, and toxicological aspects of the removal of phenanthrene by hydroponic cultures of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). International Journal of Phytoremediation. 2002. 4(3): 169-186.

18. Li, J.H., Gao, Y., Wu, S.C., K., Cheung, K.C., Wong, X.R. and Wong, M.H. Physiological and Biochemical Responses of Rice (*Oryza Sativa* L.) to phenenthrene and pyrene. Int J Phytoremediation. 2008.10: 106–118.
19. Adam, G. and Duncan, H. Influence of diesel fuel on seed germination. Journal of Environmental Pollution. 2002. 120: 363- 370.
20. Meudec, A., Poupart, N., Dussauze, J. and Deslandes, E. Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in Salicornia fragilis. Journal of Science of the Total Environment. 2007.381: 146-156.
21. Chaineau, C. H., Morel, J. L. and Oudot, J. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. Journal of Environmental Quality. 1997. 26: 1478-1483.
22. Palmroth, M. R. T., Pichtel, J. and Puhakka, J. A. Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. Bioresource Technology. 2002. 84: 221-228.
23. Ahmadi M.,Alipour Z.T.,Farrokhian firuzi A. Investigation of the possibility of phytoremediating a soil contaminated with Anthracene. Journal of chemical health risks. 2013. 3(3):69-76.