فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال هفتم، شماره ۲، بهار ۱۳۹۴

ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و آناتومیکی گونه‌ی خلر (*Lathyrus stavius*) در پاسخ به تنش آلودگی نفتی

راشین نوری*، بهاره لرستانی، نسرین کلاهچی

گروه محیط زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

E-mail: Rash.in.2060@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۲۰

چکیده

اثر تنش آلودگی نفتی بر کاهش رشد گیاه از واضح‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش آلودگی نفتی است. بطور کلی می‌توان گفت که گیاهان جهت بالا بردن مقاومت خود به تنش آلودگی نفتی تغییرات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و آناتومیکی از خود نشان می دهد که این تغییرات بر حسب گونه متفاوت است. هدف از این تحقیق بررسی مقاومت گونه‌ی خلر (*Lathyrus stavius*) و تغییرات رویشی و آناتومیکی صورت گرفته بر روی ساقه این گیاه در برابر آلودگی نفتی می‌باشد.

در این مطالعه اثرغلظت‌هایمختلفنفت خامسبک(۱، ۲، ۳، ۴ درصد)بر رشد گونه‌ی خلر (*Lathyrus stavius*) در مدت ۲ ماه در قالب یک طرح کاملا تصادفی بررسی شد. و پس از آن مطالعات مورفولوژیکی و آناتومیکی برروی گونه فوق انجام گرفت.

نتایج حاصل نشان دادکه باافزایش غلظت نفت سبک در خاک کاهش معنی‌داری در پارامترهای رویشی اتفاق می‌افتد. همین طور تغییرات ظاهری در ساقه و برگ نیز تغییراتی را در اپیدرم، پارانشیم و آوندها شاهد بودیم.

کلیدواژه‌ها: آلاینده، بقولات، محیط زیست، نفت خام سبک، هیدروکربن‌های نفتی

مقدمه

در کشورهای تولید کننده نفت، این ماده به عنوان یکی از بزرگ‌ترین آلوده کننده‌های محیط زیست به شمار می‌رود. رها شدن نفت در خاک و آب به هنگام استخراج، حمل و پالایش سبب آسیب جدی به اکوسیستم‌ها و محیط زیست می‌شود. در نفت ترکیباتی وجود دارد که برای انسان و موجودات خطرناک بوده و می‌تواند سبب مرگ در موجودات و یا ایجاد آسیب‌های جدی مثل سرطان در انسان شود [٦] این دسته از آلاینده‌های آلی پایداری زیادی در خاک دارند و انباشته شدن تدریجی آنها در خاک در طول زمان، نه تنها موجب اختلال در کارکرد طبیعی خاک مانند کاهش عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود [۸]. نفت خام با کاهش سطح مواد مغذی یا افزایش سمیت

شرایط نامطلوبی برای رشد گیاه فراهم می‌کند [۲۶] گونه‌های گیاهی متنوع به دلیل ویژگی‌های مورفولوژی و فیزیولوژی مختلف تاثیرپذیری متفاوتی نسبت به آلاینده‌های گیاهی در خاک آلوده به درصدهای مختلف نفت خام دارند که از لحاظ عملکرد و توان تولید خاک حائز اهمیت هستند [۱۸]. 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 [٤]. اما در مقابل آن استفاده از سیستم‌هایی مبتنی بر گیاه سبز برای رفع یا کاهش آلودگی، بخش اعظم از تحقیقات و مطالعات علمی را اخیراً به خود اختصاص داده‌است. در این راستا اصطلاح گیاه پالایی برای از بین بردن و یا کاهش آلودگی خاک، آب و رسوبات به کار می رود [۱۲]. برای این منظور جهت استفاده از گیاهان در فرآیند گیاه پالایی لازم است که ابتدا مقاومت این گیاهان در خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی و تغییرات به وجود آمده در سیستم آن‌ها بررسی شود. براساس مطالعات انجام گرفته در گذشته، از گرامینه‌ها به واسطه دارا بودن سیستم ریشه‌ای گسترده و شبکه‌ای به عنوان گیاهان مناسب در رفع آلودگی خاک و گیاه پالایی نامبرده شده است [١٤]. همچنین گیاهان خانواده بقولات به دلیل تثبیت ازت و تأمین نیتروژن مورد نیاز خاک، شانس بیشتری برای زنده ماندن در خاک آلوده کسب کرده‌اند، این امر باعث شده تا این گروه از گیاهان نیز در فرآیندهای گیاه پالایی مورد توجه قرارگیرند [١٤]. نتایج متفاوتی از بررسی تاثیر هیدروکربن‌های نفتی بر رشد گیاهان وجود دارد که برخی از آن‌ها در بر دارنده کاهش پارامترهای رویشی در خاک آلوده است [٢٤]. مطالعات دیگر حاکی از کاهش درصد جوانه‌زنی، زیست توده گیاهی به دلیل ایجاد سمیت و کاهش حاصلخیزی خاک در اثر حضور نفت است [11]. همچنین کلروز برگ‌ها، رشد ناقص و مرگ گیاهچه در معرض خاک آلوده به نفت گزارش شده است [۳۰]. اما به عبارتی می‌توان گفت میزان اثر آلودگی بر گیاهان و میکروارگانیسم‌ها به غلظت و نوع آلودگی نفتی بستگی دارد. نفت خام سنگین نسبت به نفت خام سبک میزان رزین و قیر بیشتری دارد که این ترکیبات به خوبی توسط گیاهان و میکروارگانیسم‌ها تجزیه نمی‌شوند و می‌توانند برای سال‌ها در خاک باقی بمانند. از سویی دیگر، برخی از هیدروکربن‌های فرار در نفت خام سبک نسبت به نفت خام سنگین بیشتر هستند که این ترکیبات برای سیستم‌های بیولوژیکی خاک بسیار سمی می‌باشند. هر چند بعضی از گیاهان توانایی تجزیه آلودگی‌های نفتی در خاک را دارا هستند [۲۳]. هدف از این پژوهش بررسی تغییرات رشدی گیاه *Lathyrus stavius* و همچنین تغییرات موفولوژی و آناتومیکی است که گونه فوق در خاک‌های آلوده به نفت خام از خود نشان می‌دهد. تا در آینده برای استفاده از این گیاه در فرآیند گیاه پالایی تصمیم‌گیری شود.

مواد و روش‌ها

خاک تهیه شده ابتدا از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد PH عصاره اشباع خاک با استفاده از PH متر [۲۹]. مقدار نیتروژن خاک به روش کجلدال [۱۰]. فسفر خاک به روش اولسن [١٦]. قابلیت هدایت الکتریکی، و شوری با استفاده از EC سنج اندازه‌گیری شد. همچنین میزان مواد آلی خاک با استفاده از روش والکلیبلک اندازه‌گیری شد [۲۰]. سپس بافت خاک با

استفاده از روش هیدرومتری تعیین کشت [۹]. کاشت گیاه در منطقه جغرافیایی کوهستانی غرب کشور در فصل بهار انجام شد. کاشت بذرها در گلدان به میزان ٤۰۰ گرم خاک پس از مخلوط شدن با درصدهای مختلف نفت سبک (۱،۲، ۳ و ٤ وزنی/ وزنی) در ۳ تکرار آماده گردید. یک عدد تیمار شاهد نیز برای هر تکرار جهت مقایسه تغییرات رشد تهیه شد و سپس نسبت به کاشت بذور اقدام گردید. پس کاشت بذور تغییرات رشد (جوانه زنی، طول اندام هوایی و زمینی، تعداد برگ، سطح برگ) در طی ۲ ماه در آنها ثبت شد به کمک آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) در طرح بلوک های تصادفی نسبت به معنی‌دار بودن تغییرات مشاهده شده نسبت به نمونه‌های شاهد اقدام گردید [۱۹]. همچنین در طی مرحله رشدی گونه فوق تغییران ظاهری مشاهده شده نیز ثبت گردید. مطالعات بافت شناسی به منظور تغییرات درون بافتی گیاهان در واکنش به تنش آلودگی نفتی صورت می‌گیرد [۲۲]. در این بخش از تحقیق ساقه‌های کاملاً رشد یافته گونه‌های ذکر شده مورد استفاده قرار گرفتند. در این مرحله نمونه‌ها در محلولی متشکّل از آب: گلیسیرین: الکل ۷۰٪ به نسبت ۱:۱:۱ به مدّت چند هفته قرار داده و تثبیت شد [۲۲]. تهیه برش‌های نازک برای مطالعه بافت‌های گیاهی با بزرگنمایی ٤*،۱۰* صورت گرفت و پس از آن جهت رنگ آمیزی از محلول متیلن بلو به منظور رنگ‌آمیزی بافت چوبی و کارمن زاجی منظور رنگ‌آمیزی بافت سلولزی استفاده شد.

(جدول ۱) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

پارمتر	مقدار
شن (درصد)	۳۵
سیلت (درصد)	۱۹
رس (درصد)	٤۳
بافت خاک	لوم رسی
PH	۷
EC (دسی زیمنس بر متر)	۲/۹۳
نیتروژن (درصد)	۰/۰۵
فسفر (میلی گرم بر کیلوگرم)	۱۲
مواد آلی (درصد)	٦/۲۱

نتایج و بحث

روند نزولی جوانه زنی، ارتفاع اندام هوایی، تعداد برگ و سطح برگ (جدول ۲) از گونه شاهد به سطح آلودگی معنی‌دار بودن کاهش جوانه‌زنی با افزایش غلظت‌های نفت خام سبک را نشان می دهد. همچنین روند صعودی اندازه ریشه (جدول ۲) از گونه شاهد به سطح آلودگی معنی‌دار بودن افزایش اندازه ریشه را نشان می‌دهد.

نفت خام سبک تاثیراتی متفاوتی را بر گیاهان مختلف دارند. تاثیراتی که در (جدول ۳) به سه صورت کلروز، نکروز و رشد ناقص، تغییر شکل ریشه و مرگ سلول‌های برگی مشاهده می شود که هرچقدر غلظت آلودگی نفتی در خاک بیشتر می‌شود تاثیرات نفت بر شاخص‌ها بیشتر قابل تشخیص هستند.

نتایج حاصل از مطالعه ساختار ساقه *Lathyrus stavius* (جدول ٤) در تیمارهای آلوده و شاهد تفاوت‌های شاخصی را نشان داده است که مهم‌ترین آنها نامنظمی شکل سلول های اپیدرمی، ضخیم شدن لایه کوتیکولی اپیدرم، کاهش فضای بین سلولی، کاهش در اندازه و تعداد سلول های پارانشیم، نامنظمی آوندهای چوبی و افزایش آوندهای آبکش تیمارهای آلوده در مقابل تمیارهای شاهد بوده است.

(جدول ۲) نتایج اندازه گیری شاخص‌های رشد در غلظت‌های مختلف نفت خام سبک (۰، ۱، ۲، ۳ و ٤ درصد)± انحراف معیار، حروف مشترک عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد آزمون LSD را نشان می‌دهد

شاخص رشد	غلظت‌های مختلف نفت				
	شاهد	٪۱	٪۲	٪۳	٪٤
جوانه‌زنی	۳۰ab	۲۳abc ±۰/۲۱	۲۰ bcd ±۰/۳۹	۱۸cde ±۰/٤	۱۵de ±۰/٤٤
ارتفاع اندام هوایی	۲۷/۸ab ±۳/۹	۲۵/۱٤abc ±۳/٦	۲۱/۷bcd ±۲/۵	۱۵/۳cde ±۲/۹	۱۲/٤de ±۱/۵
تعداد برگ	۲٦/۱۷ab ±۳/۵	۲۳/۳abc ±۲/۵	۱۹/۱٦ bcd ±۳/۸	۱٤/۹cde ±٤/۲	۱۱/۵de ±۲/۵
سطح برگ	۵/۱ab ±۱/۷	٤/۷abc ±۱/٤	٤/۱bcd ±۱/۱	۳/۷cde ±۱/۱	۳de ±۱/۱
اندازه ریشه	۱۲/۵ab ±۱/۳	۱۵/۱abc ±۲/۵	۲۱/۳ bcd ±۱/۵	۲۵/٦cde ±۲/٦	۲۷/۳de ±۲/٤

(جدول ۳) نتایج خصوصیات مورفولوژیکی گونه‌ی *Lathyrus stavius* در غلظت‌های مختلف نفت خام سبک (۰، ۱، ۲، ۳ و ٤ درصد)

تغییرات مورفولوژیکی	شاهد	٪۱	٪۲	٪۳	٪٤
کلروز	ندارد	ندارد	ندارد	کم	متوسط
نکروز	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	دارد
مرگ کامل سلول های برگ	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	دارد
شل شدن بافت ساقه	ندارد	ندارد	ندارد	کم	متوسط
رشد ناقص	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	دارد
تغییر شکل ریشه	راست	راست	راست/افشان	افشان	افشان
پژمردگی	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد	دارد

(جدول ٤) نتایج خصوصیات آناتومیکی گونه‌ی *Lathyrus stavius* در غلظت‌های مختلف نفت خام سبک (۰، ۱، ۲، ۳ و ٤ درصد)

تغییرات آناتومیکی ساقه	شاهد	٪۱	٪۲	٪۳	٪٤
شکل سلول های اپیدرمی	هم اندازه	هم اندازه	هم اندازه	نامنظم	نامنظم
لایه کوتیکولی اپیدرم	نازک	نازک	نازک	ضخیم	ضخیم
فضای بین سلولی	بزرگ	بزرگ	متوسط	کوچک	کوچک
تعداد سلول های پارانشیم	هم اندازه	هم اندازه	هم اندازه	کاهش	کاهش
اندازه سلول های پارانشیم	بزرگ	بزرگ	بزرگ	کوچک	کوچک
دستجات آوند چوبی	منظم	منظم	منظم	نامنظم	نامنظم
دستجات آوند آبکش	هم اندازه	هم اندازه	هم اندازه	افزایش	افزایش

بحث و نتیجه‌گیری

جوانه‌زنی یک مرحله مهم در گیاه است که به تنش‌ها حساس است [۷]. کاهش جوانه‌زنی به دنبال افزایش غلظت‌های آلودگی نفتی توسط Clark (2007) و Peretiemo-Clark نیز گزارش شده است [۲۵]. همچنین در پژوهش Agbogidi (2005) و Ejemete

فقر رطوبتی و هوادهی خاک [۱]. و نیز (2005) Nwadinigwe و Uzodimma کاهش حرکت مواد مغذی [۲۱]. را از دلایل کاهش جوانه‌زنی بیان نمودند. با توجه به مطالعات صورت گرفته علل کاهش جوانه‌زنی در گونه‌ی مورد مطالعه را می‌توان به یک یا ترکیبی از عوامل فوق نسبت دهیم. اختلاف معنی‌دار میانگین ارتفاع اندام هوایی (جدول ۲) در گونه‌ی فوق نشان دهنده اثر بازدازندگی نفت خام بر این شاخص رشدی است. که مشابه کاهش ارتفاع اندام هوایی ذرت و اقاقیا در خاک آلوده به نفت خام (2006) Agbogidi و Eshegbeyi انجام شد. از نظر محققان کاهش اندام هوایی به علت عدم تهویه ناکافی خاک است که با کاهش مواد غذایی، سبب توقف رشد، کوتاهی گیاه و پژمردگی آن می‌شوند [۲]. اختلاف معنی‌دار مشاهده شده میانگین تعداد برگ و سطح برگ (جدول ۲) که در اثر افزایش غلظت‌های نفت خام مشابه کاهش تعداد و سطح برگ در گیاه تاج خروس در خاک آلوده به نفت خام که توسط (2008) Omoson et al انجام شده می‌باشد. در شرایط تنش زا حفظ مقدار آب درون بافتی برای گیاه مهم است [۳]. از طرفی خواص هیدروفوبیک نفت، توانایی رطوبتی رسوبات را کاهش داده، بنابراین، آب و مواد غذایی در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرد [۱۷] و سبب ایجاد تنش آبی می‌شود که تنش آبی، نمو برگ را به دو طریق، کاهش در اندازه برگ و تعداد برگ محدود می‌کند. [۲۵]. 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 [۳]. همچنین کاهش معنی‌دار سطح برگ در پژوهش‌های انجام شده Sharma et al (1980) به حساس بودن روزنه برگ به افزایش غلظت‌های نفت خام سبک نسبت داده شده است [۲۷]. با توجه به معنی‌دار بودن افزایش اندازه ریشه (جدول ۲) مشاهده شده که مشابه کار (2004) et alHuang است که نشان می‌دهد نفت خام سبک تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر طول ریشه نشان داد محققان یکی از ساز و کارهای گیاهان در برابر برخی تنشها، مثل آلاینده‌های نفتی را توسعه ریشه می‌دانند که گیاه با افزایش اندازه ریشه آب و مواد غذایی مورد نیاز خود را تأمین می‌کند [۱۵]. همچنین محققان (1990) Aprill و Sims با تحقیقاتی در این زمینه افزایش اندازه ریشه را در گیاهان مقاوم کمک به افزایش فعالیت میکروارگانسیم‌ها در خاک می‌داند [۵]. تاثیرات آلودگی نفت خام سبک بر خصوصیات مورفولوژیکی گونه فوق که در جدول ۳ نشان داده شده است نیز در پژوهش انجام شده Omoson (2008) که در آن نفت خام سبب زرد شدن برگ و مرگ سلول‌های شده بود نیز مشاهده شد. همچنین کاهش رنگ‌ریزه‌های فتوسنتزی در پژوهش Mallah در سال ۱۹۹۸ مشاهده شد. محققان بیان می‌دارند که کاهش توانایی فتوسنتز که سبب کلروز و نکروز برگ‌ها شده و سرانجام به مرگ برگ‌ها می‌انجامد به دلیل محدودیت جذب آب توسط ریشه است [۱۷و ۲۲]. شل شدن بافت در گونه فوق در غلظت نهایی مشاهده شد که محققان تهویه ناکافی را به دنبال آلودگی نفتی از علل این امر می‌دانند [۲۸]. نقص در رشد و پژمردگی گیاه همانند تاثیر خاک آلوده به نفت بر روی خصوصیات ذرت بود که در پژوهش انجام شده Agbogidi and (2006) Eshegbeyi بود محققان علت این امر را عدم تهویه خاک دانستند که با کاهش مواد غذایی سبب رشد ناقص و پژمردگی گیاه می‌شود [۲]. گستردگی ریشه نیز محققان یکی از سازوکارهای گیاهان را در برابر

برخی از تنش‌ها افزایش طول و گستردگی ریشه می‌دانند که گیاه با افزایش آن سبب تامین آب و مواد غذایی مورد نیاز آن می‌شود [۱۵]. محققان علت این امر را ناهنجاری‌های مورفولوژیکی تنش خشکسالی فیزیولوژیکی ناشی از گرسنگی اکسیژن می‌دانند [۱۳]. همچنین در پژوهش مشابه‌ای Omoson (2008) در گونه‌ی (*Amaranthus hybrids* L.) انجام شد محققان دلیل امر را جلوگیری از دست دادن آب درون سلولی می‌دانند [۲۲].همچنین در پژوهشی دیگر که Sharma et al (1980) در گونه‌ی (*Loliummultiflorum* L.) نیز مشاهده شد علت تغییرات بافت اپیدرم را جلوگیری از کاهش یافتن آب درون بافتی می‌دانند [۲۷]. به طور کلی آلودگی خاک به هیدروکربن‌های نفتی یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های عصر کنونی است که این آلودگی می‌تواند سبب بروز سمیت برای گیاه، انسان و سایر موجودات زنده شوند. بنابراین حذف این ترکیبات از محیط زیست، امری الزامی است. گیاه پالایی یک فن‌آوری روبه گسترش در دنیا است که قابلیت بومی شدن در کشور به لحاظ فنی واقتصادی را دارا می‌باشد. شناسایی و به کارگیری گونه‌های گیاهی که مقاومت بالایی در برابر هیدروکربن‌های نفتی در خاک داشته باشند، یک عامل کلیدی درموفقیت این فن‌آوری است. از این رو در این تحقیق تغییرات رفتاری گونه‌ی خلر (*Lathyrus stavius*) در خاک‌های آلوده به غلظت‌های مختلف نفت خام سبک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد آلودگی خاک به هیدروکربن‌های نفتی کلیه شاخص‌های رشد در گیاه به جز طول ریشه را کاهش می‌دهد. اثر نفت بر روی خصوصیات تشریحی گونه و همین طور تغییرات صورت گرفته در بافت گونه‌ی فوق نشان از سازگاری گیاه در برابر تنش آلودگی نفتی داشته است.

منابع:

[1] Agbogidi OM, Ejemete OR. 2005 , An assessment of the effects of crude oil pollution on soil properties, germination and growth of (Gambayaalbida L.). Uniswa, Res. J. Agric., Sci. Technol. 8(2): 148-155.

[2] Agbogidi, O. M. and Eshegbeyi, O. F. 2006, Performance of Dacryodesedulis (Don. G. Lam H. J.) seeds and seedlings in a crude oil contaminated soil. Journal of Sustainable 22:1- 13.

[3] 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.

[4] Anigboro, A. Tonukari, N. 2008 , Effect of crude oil on inverase and amylase activities in Cassava leaf extract and germinating Cowpea seedlings, Asian Journal of Biological Sciences, 1: 56-60.

[5] Aprill, W. and Sims, R. C. 1990, Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrcarbon treatment in soil, Chemosphere, 20 (1-2): 253-265.

[6] Armstrong, B., E. Hutchinson, J. Unwin, and T. Fletcher. 2004,Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and Meta-analysis. Environ Health Perspectives, 112: 970-978.

[7] 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.

[8] Besalatpour, A., M. A. Hajabbasi, A. H. Khoshgoftarmanesh and V. Dorostkar. Landfarming. 2011,process effects on some biological and chemical properties of petroleum-contaminated soils. Soil Sediment Contam. 20(1).(In Press).

[9] Bouyoucos, C.J. 1962, Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soil. Agron. J. 54:464-465.

[10] Bremner, J.M. Nitrogen – Total. P.1085-1122. In D. L Sparks, et al: 1996 , Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American society of agronomy, Inc. Madison, WI.

[11] Corseuil, H.X. and F.N. Moreno. 2000, Phytoremediation potential of willow trees for aquifers contaminated with ethanolblended gasoline. Water Research 35:3013-3017.
[12] Cunningham S.D., T.A Anderson., A.P. Schwab F. C Hsu. 1996 ,Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. AdvAgron. 56:56– 114.
[13] Gill L.S, Nyawuame H.G.K, Ehikhametalor A.O, 1992,Effect of crude oil on the growth andanatomical features of Chromolaenaodorata (L) K, e R. Newsletter, 6: 16.
[14] Gudin, C., Syratt, W.J. 1975, Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. Environ. Pollut., 8: 107-112.
[15] 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.
[16] Kuo, S.. Phosphorus. P.. In Sparks, D. L. et al, method of soil analysis. Published by: 1996,Soil science society ofAmerica, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, WI. 869-920
[17] Malallah, G., Afzal, M., Kurian, M., Gulshan, S.andDhami, M. S. I1998. Impact of oil pollution on some desert plants. Journal of Environment international 24(8): 919-924.
[18] Morehead N.R, B.J. Eadie., B. Lake., P.D. Landrum., and D. Berner. 1986.The sorption of PAH onto dissolved organic matter in Lake Michigan waters. Chemosphere: 15:403– 12.
[19] Nasir, H., Iqbal, Z., Hiradate, S. and Fujii, Y. 2005, Allelopathic potential of Robinia pseudo-acacia L. Journal of Chemical Ecology 31: 2179-2192.
[20] Nelson, D.W., and L.E. Sommers. 1996. Organic carbon and organic matter.. In D. L. Sparks, et al: Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, WI. p. 961-1010.
[21] Nwadinigwe AO, Uzodimma NS. 2005. Effects of petroleum spills on the germination and growth of groundnut (Arachishypogaea L.), J. Biol. Res. Biotechnol., 3(2): 101-105.
[22] Omosun, G., Markson, A. A. and Mbanasor, O. 2008 Growth and anatomy of AmaranthusHybridus as affected by diferrent crude oil concentrations. American-Eurasian Journal of Scientific Research 3(1): 70-74.
[23] Overton, E.B., Sharp, W.D and Roberts, P. 1994.Toxicity of petroleum. In Basic Environmental Toxicology; Cockerham, L.G., Shane, B.S., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL; 133–1.
[24] Palmroth, M. R. T., J. Pichtel, and J. A. Puhakka. 2002. Phytoremediation of subartic soil contaminated with diesel fuel. Bioresource Technology 84:221-228
[25] 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.
[26] Rosso, P. H. C., Pushnik, J., Laid, M. L. and Ustin, S. 2005. Reflectance properties and physiological responses of Salicorniavirginica to heavy metal and petroleum contamination. Journal of Environmetal Pollution 137: 241- 252.
[27] Sharma, G. K., C. Chandler and Salemi, 1980. Environmental pollution and leaf cuticular variation in PuerrerialobataWilld. Annals of Botany, 45: 77-80.
[28] Smith, B., Stachowisk, M. and Volkenbugh, E. 1989. Cellular processes limiting leaf growth in plants under hypoxic root stress. Journal of Experimenal Botany 40(1):89 94.
[29] Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity.P. 475-490. In Sparks, D. L. et al, method of soil analysis. Published by: soil science society of America, Inc. American society of agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
[30] Udo, E. J., and A.A. Fayemi. 1975. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. J. Environ. Qual. 4 (4): 537-540.