



## تعیین اثر نفت خام بر زی توده، رنگیزه‌های مسیر بیوسنتزی کلروفیل و مقدار عناصر دانه رست گیاه حرا (*Avicennia marina*)

بابک مرادی<sup>۱</sup>، حسن زارع مایوان<sup>۱\*</sup>، مهری سیده‌شترودی<sup>۲</sup>، منا صراحی نوبر<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

<sup>۲</sup>گروه علوم زیستی دریا، پژوهشکده علوم دریایی، پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی، تهران

<sup>۳</sup>گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	اکوسیستم‌های مانگرو ایران به دلیل قرار گرفتن در سواحل خلیج فارس که یکی از شاهراه‌های مهم حمل‌ونقل مواد نفتی است، در معرض انواع آلاینده‌های نفتی قرار دارند. به‌منظور بررسی اثرات آلودگی نفتی روی برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه حرا ( <i>Avicennia marina</i> )، آزمایشی در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. زی توده و مقدار رنگیزه‌های (کلروفیل a و b، پروتوپورفیرین، منیزیم پروتوپورفیرین، پروتوکلروفیلید و کاروتنوئید کل) برگ گیاه، چهار ماه پس از جوانه‌زنی بذره‌های کاشته شده در خاک آلوده به غلظت‌های مختلف (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد وزنی) نفت مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج نشان داد که آلودگی نفتی، زی توده و مقدار رنگیزه‌های گیاه به‌ویژه کلروفیل b را کاهش داد. همچنین تشکیل برگ‌های جدید با افزایش غلظت نفت در خاک محدود گردید. مطالعه نیم‌رخ یونی در ریشه و برگ دانه رست‌های رشد داده‌شده در غلظت ۵ درصد نفت، تغییر در محتوای بسیاری از عناصر معدنی از جمله منیزیم، کلسیم، آهن و پتاسیم را نسبت به نمونه‌های شاهد نشان داد. یافته‌های این تحقیق اثرات منفی آلودگی نفتی را بر رشد و نمو، فتوسنتز و تغذیه گیاه حرا نشان داد.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۵/۰۹/۰۹	
اصلاح: ۹۵/۱۰/۲۵	
پذیرش: ۹۵/۱۰/۳۰	
کلمات کلیدی:	
آلودگی نفتی	
رنگیزه	
عناصر مغذی	
<i>Avicennia marina</i>	

### مقدمه

جنگل‌های مانگرو در سواحل خلیج فارس و دریای عمان در یک محدوده ۱۸۳۰ کیلومتری از جنوب شرقی تا جنوب غربی ایران قرار گرفته‌اند. این جنگل‌ها در سه استان سیستان و بلوچستان، هرمزگان و بوشهر وجود دارند. جنگل‌های مانگرو در ایران به دو گونه حرا (*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.) و چنل (*Rhizophora mucroanata* Lam.) محدود می‌شوند. اکثر جنگل‌های مانگرو که در زیست‌گاه‌های حرای جنوب ایران مستقر شده‌اند، از گونه *A. marina* تشکیل یافته است (Rashvand and Sadeghi, 2014). بوم‌سازگان‌های مانگرو به‌عنوان منبع حفظ تنوع زیستی، پناهگاه و محل تغذیه و زیستگاه بسیاری از جانوران عمل می‌کنند. ویژگی مهم این بوم‌سازگان تولید زی توده در نواحی جذر و مدی دریا است. این نواحی منبع بزرگ غذایی برای بسیاری از جانداران دریایی به شمار می‌روند. به دلیل شرایط ویژه‌ای که این جنگل‌ها دارند؛ می‌توانند نقش بسیار مؤثری در صنعت شیلات و آبی‌پروری ایفا کنند. به‌عنوان نمونه، بسیاری از گونه‌های ماهی‌ها و میگوها بخشی از چرخه زندگی خود را در میان ریشه‌های جنگل‌های مانگرو می‌گذرانند (van Bochove et al., 2014).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [zaremaih@modares.ac.ir](mailto:zaremaih@modares.ac.ir)

خلیج فارس یکی از مهم ترین آبراهه های جهان است. به دلیل حضور منابع نفت و گاز در حوضه این خلیج، صنایع نفت و گاز، اعم از اکتشاف، استخراج و حمل و نقل این مواد به شدت توسعه یافته است. خلیج فارس تقریباً دوسوم منابع نفت و گاز و یک چهارم نفت تولیدی جهان را به خود اختصاص داده است. یکی از معضلات در خلیج فارس آلودگی های نفتی است (Ebrahimi-Sirizi and Riyahi-Bakhtiyari, 2013). توجه به اثرات این نوع آلودگی ها بر گیاهان حرا و نیز پتانسیل فیزیولوژیک این گیاهان در پاسخ به آلودگی های نفتی ضرورتی است که می تواند چشم انداز مدیریت آلودگی ها و روش های ارتقای مقاومت گیاهان این بوم سامانه را در زمان بروز آلودگی نفتی بهبود بخشد.

گیاهانی که در نواحی دارای آلودگی نفتی رشد داده می شوند، اثرات تجمعی مواد سمی و کاهش رشد را نشان می دهند. همچنین نفت سبب جلوگیری از هوادهی خاک می شود و منافذ خاک و سطح ریشه گیاه را می پوشاند؛ این موضوع ممکن است به خفگی ریشه گیاه بیانجامد (Pernar et al., 2006). هوادهی ناکافی سبب تنش در ریشه گیاه و عدم دسترسی کافی به آب می شود (Ashraf, 1999) که به نوبه خود از رشد ممانعت به عمل می آورد. اثرات نفت خام بر گیاه تابع غلظت نفت، مدت زمان قرار گرفتن در معرض نفت و گونه گیاه است (Baek et al., 2004; Merkl et al., Adam and Duncan, 2002; 2004; Naidoo et al., 2010). از جمله صفات فیزیولوژیکی که تحت تأثیر تنش نفتی قرار می گیرد، مقدار رنگیزه ها و وضعیت تغذیه ای گیاه می باشد (Yong and Tam, 2007).

Wardrop و همکاران (۱۹۸۷)، سمیت دو نوع نفت را بر مانگرو حرا در یک مطالعه میدانی مورد بررسی قرار دادند. آن ها میزان ریزش و تخریب برگ، تخریب پنوماتوفورها، گل دهی و میوه دهی طی یک دوره سه ساله را بررسی کردند و اثرات سمی نفت بر گیاه گزارش شد. Youssef در سال ۲۰۰۲، برخی پاسخ های فیزیولوژیک دانه رست های حرا را به اثرات فیتوتوکسیک بخش محلول در آب نفت سبک عربی بررسی کرد. در این مطالعه رفتار روزنه ها، عملکرد رشدی و انباشت PAH ها در دانه رست های حرا گزارش شد. در ۲۴ ساعت آغازین تیمار، عدم کنترل کافی بر رفتار روزنه ای و تخریب مشاهده گردید. Zhang و همکاران (۲۰۰۷) اثر روغن روان کننده (Lubricating oil) بر جوانه زنی، رشد اولیه و پاسخ های فیزیولوژیک مانگرو *Bruguiera gymnorhiza* را مورد بررسی قرار دادند. اگرچه جوانه زنی گیاه تحت تأثیر قرار نگرفت اما رشد اولیه شامل ارتفاع، تعداد برگ و بیوماس دانه رست های تیمار شده با روغن موتور به طور معناداری کاهش یافت. Naidoo و همکاران (۲۰۱۰) پاسخ های فیزیولوژیک و مورفولوژیک مانگروهای *Avicennia marina* و *Bruguiera gymnorhiza* را به آلودگی نفتی در شرایط طبیعی میدانی و همچنین گلخانه ای بررسی نمودند. در مطالعه گلخانه ای، دانه رست های ۱۵ ماهه حرا به مدت ۶ ماه در معرض نفت قرار گرفتند. تیمار نفتی، تبادل دی اکسید کربن را در گیاه تا ۵۰ درصد کاهش داد. نتایج آن ها به طور کلی نشان داد که تیمار نفتی به شدت کارایی فتوسنتزی را در هر دو گیاه مانگرو کاهش داده است.

نور خورشید برای انجام فتوسنتز، به وسیله رنگیزه های متعددی که در کلروپلاست برگ گیاه وجود دارد، جذب می شود. این رنگیزه ها نقش مهمی در سیستم تولید و در نتیجه رشد گیاه بازی می کنند. کلروفیل در این میان نقش اصلی را در تنظیم میزان تولید ناشی از فتوسنتز بازی می کند. میزان فتوسنتز و در نتیجه میزان تولید گیاه به نوعی وابسته به غلظت کلروفیل در برگ گیاه است. مقدار کلروفیل در گیاه تحت تأثیر تنش های مختلف قرار می گیرد (Onwurah et al., 2007). اثر منفی آلودگی نفتی بر محتوای کلروفیل پیش تر گزارش شده است. بیوسنتز کلروفیل از آمینواسید گلوتامیک اسید آغاز می شود که پس از وصل شدن به tRNA و تولید آمینولونیک اسید<sup>۱</sup> و از دست دادن گروه آمین و سلسله واکنش های آنزیمی تولید پروتوپورفیرینوزن<sup>۲</sup> و سپس پروتوپورفیرین<sup>۳</sup> می نماید. سپس با افزودن آهن و یا منیزیم به آن سرنوشت متفاوتی خواهد داشت. با کلاته شدن با منیزیم، مولکول منیزیم پروتوپورفیرین تولید می شود که پس از تبدیل شدن به پروتوکلروفیلید<sup>۴</sup>، می تواند کلروفیلید a و یا کلروفیلید b را به وجود آورد که تبدیل به کلروفیل a یا b می شوند (Taiz et al., 2015) (شکل ۱).

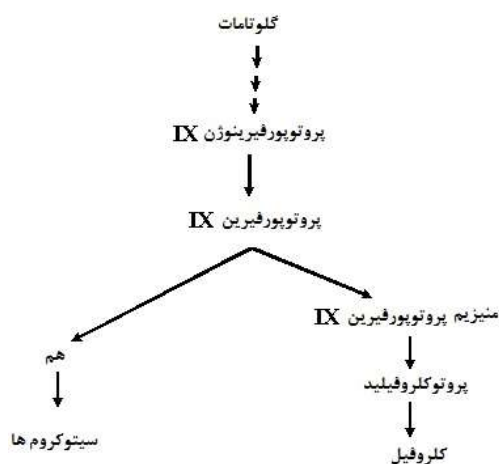
<sup>1</sup> aminolevulinic acid

<sup>2</sup> protoporphyrinogen

<sup>3</sup> protoporphyrin

<sup>4</sup> protochlorophyllide

با بررسی مقدار هرکدام از این پیش سازها در گیاه تحت تیمار آلودگی نفتی، می‌توان اثر احتمالی نفت را بر مسیر بیوسنتزی این رنگیزه اصلی در گیاه یافت.



شکل ۱. طرح‌واره مسیر بیوسنتزی کلروفیل در گیاهان

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر غلظت‌های مختلف نفت بر جوانه‌زنی، رشد و نمو گیاه حرا به‌عنوان گونه اصلی جوامع مانگرو در نوار ساحلی جنوب کشور می‌باشد. همچنین بررسی اثرات نفت بر غلظت برخی مولکول‌های حد واسط در مسیر بیوسنتزی کلروفیل (پروتوپورفیرین، منیزیم پروتوپورفیرین و پروتوکلروفیلید) و مقدار کلروفیل و نیز نیمرخ یونی گیاه حرا امکان تجزیه و تحلیل اثرات نفت بر فیزیولوژی تغذیه و تا حدودی فتوسنتز گیاه را فراهم می‌سازد. یافته‌های این تحقیق می‌تواند در مورد نقطه اثرگذاری آلودگی نفتی در تولید کلروفیل و ارتباط آلودگی نفتی و سمیت احتمالی ناشی از جذب بیش از حد عناصر و یا محدودیت در جذب آن‌ها به دلیل آلودگی نفتی مؤثر باشد.

## مواد و روش‌ها

### آلودگی خاک

نفت خام از پالایشگاه نفت تهران تهیه شد. ویژگی‌های این نفت در جدول ۱ ذکر شده است. خاک مورد نیاز از نهالستان باغو واقع در نزدیکی شهر بندرعباس تهیه گردید و پس از استریل شدن در اتوکلاو (در دمای ۱۲۱ درجه به مدت یک ساعت) مورد استفاده قرار گرفت. این پژوهش در طرح کاملاً تصادفی با درصدهای نفتی ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد (w/w) در خاک انجام شد. مقدار مناسب از نفت خام با ۵۰۰ گرم خاک مخلوط گردید و تا زمان همگن شدن به صورت مکانیکی هم زده شد. سپس خاک به گلدان‌های نیم لیتری منتقل گردید. جهت انجام تبادل کاتیونی، گلدان‌های محتوی خاک آلوده به نفت به مدت یک هفته قبل از کاشت گیاه در محیط گلخانه نگهداری شد (Noori et al., 2015). خاک شاهد فاقد نفت بود.

### کاشت گیاهان

ابتدا بذرهای گیاه با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۱۰ دقیقه و الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه استریل شدند. پس از کندن پوسته خارجی بذرها، پروپاگول‌ها<sup>۱</sup> به گلدان‌های ۰/۵ لیتری پلاستیکی منتقل و ۲ عدد بذر در هر گلدان به فاصله مساوی کاشت شد. هر تیمار مشتمل بر ۱۰ گلدان بود. گیاهان در شرایط دمایی بین ۲۴ درجه روز و ۱۸ درجه سلسیوس شب، رطوبت ۲۱-۱۵ درصد و شرایط نوری ۱۵ ساعت روزانه در طی ۴ ماه رشد داده شدند. کل آزمایش با سه تکرار و به صورت متوالی انجام پذیرفت.

<sup>1</sup> propagules

جدول ۱. ویژگی‌های نفت خام بر اساس گزارش پالایشگاه نفت شهید تندگویان

محتوای سولفور	WT%	۱/۲۱
نیتروژن کل	WT%	۰/۲
آسفالت	WT%	۰/۵۵
محتوای واکس	WT%	۷/۳
کربن باقیمانده	WT%	۳/۶۴
سولفید هیدروژن	mg/l	<۱
نیکل	mg/l	۸/۳
وانادیوم	mg/l	۲۸
آهن	mg/l	۵/۴
سرب	mg/l	<۱
سدیم	mg/l	۲۷
محتوای آب	Vol%	<۰/۰۵

## سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای سنجش میزان کلروفیل از روش Porra و همکاران (۱۹۸۹)، کاروتنوئید Holm و همکاران (۱۹۵۴) و پیش سازهای کلروفیل از روش Yang و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد. بر اساس این روش‌ها ۰/۲۵ گرم بافت برگ (مخلوطی از ۱۰ گیاه) در ازت مایع به خوبی ساییده شد تا پودر شود. سپس با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط و به خوبی همگن شدند. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ گرم سانتریفیوژ گردیدند. پس‌ازاین مرحله، فاز بالایی را برداشته و شدت جذب آن در طول موج‌های ۴۴۰/۵، ۴۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر که بالاترین جذب کلروفیل a، b و کاروتنوئید می‌باشد و طول موج‌های ۵۷۵، ۵۹۰، ۶۲۸، ۶۶۷ و ۶۵۰ که بالاترین جذب پروتوپورفیرین، منیزیم پروتوپورفیرین، پروتوکلروفیلید می‌باشد با استفاده از اسپکتروفتومتر (Analytik Jena Spekol 2000, Germany) قرائت شد. غلظت رنگیزه‌های موردنظر با استفاده از توابع زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/ml}) = 12.25 A_{663.6} - 2.55 A_{646.6}$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/ml}) = 20.31 A_{646.6} - 4.91 A_{663.6}$$

$$\text{Chl Total } (\mu\text{g/ml}) = 17.76 A_{646.6} + 7.34 A_{663.6}$$

$$\text{Car } (\mu\text{g/ml}) = 4.69 A_{440.5} - 0.267 \text{ Chl Total}$$

$$\text{PPIX } (\mu\text{g/ml}) = 196.25 A_{575} - 46.6 A_{590} - 58.68 A_{628}$$

$$\text{MGPP } (\mu\text{g/ml}) = 61.81 A_{590} - 23.77 A_{575} - 3.55 A_{628}$$

$$\text{PChlide } (\mu\text{g/ml}) = 42.59 A_{628} - 34.22 A_{575} - 7.25 A_{590}$$

در روابط فوق Chl a، Chl b، Chl Total، Car، PPIX، Pchlide به ترتیب کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پروتوپورفیرین، منیزیم پروتوپورفیرین و پروتوکلروفیلید می‌باشند.

ارزیابی عناصر اصلی، فرعی و جزئی

به این منظور ۰/۵ گرم از بافت گیاهی خشک (ریشه و برگ) که حاصل تهیه مخلوط پودر خشک از حداقل ۱۰ گیاه بود؛ در لوله‌های تفلونی حاوی اسید هیدروفلوئوریک، پرکلریک، نیتریک و هیدروکلریک اسید (هرکدام به میزان ۵ میلی‌لیتر)، ریخته شد و تمامی نمونه‌ها در محفظه‌ی Hot Plate در دمایی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت قرار گرفت تا عملیات هضم کامل نمونه‌ها و تبخیر انجام گیرد. پس‌از آن نمونه‌ها در دمای محیط خنک شده و با آب مقطر به حجم رسانده شد؛ تا آماده خوانش دستگاهی با دستگاه ICP-MS (Model: ICP-MS Agilent series 4500) شوند (Standard Operation Procedure).

### تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری این پژوهش به صورت طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تحلیل آماری نتایج بر اساس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها در تیمارها نیز توسط روش One-Way Analysis of Variance بررسی شد.

### نتایج

#### اثر تیمار نفت بر رشد

اثر نفت بر فاکتورهای مختلف رشد مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش مقدار نفت در خاک، جوانه‌زنی بذرها بین ۱۰ تا ۲۰ درصد کاهش یافت. وزن تر و وزن خشک اندام هوایی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت. در غلظت‌های ۲/۵ و ۵ درصد نفت در خاک، وزن تر و خشک ریشه نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد. تعداد انشعابات ریشه‌ای کاهش یافت ولی طول ریشه اصلی به‌طور معناداری تحت تأثیر قرار نگرفت. میانگین ارتفاع دانه رست‌ها با افزایش غلظت نفت در خاک به‌طور معناداری کاهش نشان داد. همچنین، حضور نفت در خاک، به‌ویژه در نمونه‌های تحت تیمار غلظت‌های بالاتر نفت، مانع تشکیل جفت برگ‌های دوم تا پنجم شد. این برگ‌ها در نمونه‌های شاهد ایجاد شده بودند.

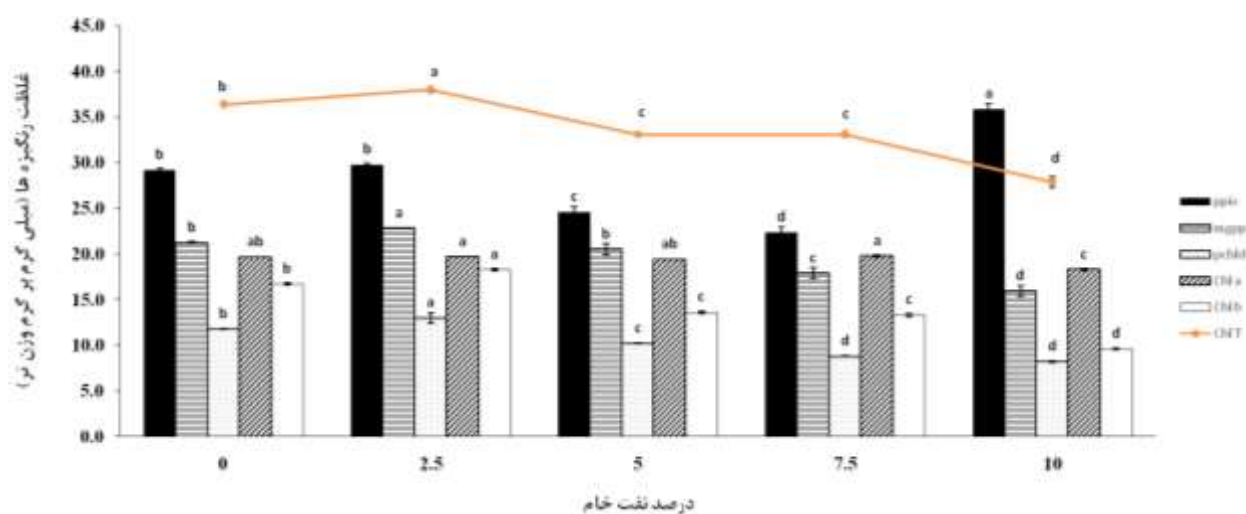
جدول ۲. پارامترهای مختلف رشد گیاه حرا، چهار ماه پس از رشد در خاک حاوی غلظت‌های مختلف نفت

تیمار نفت	شاهد	۲/۵٪	۵/۱۰٪	۷/۵٪	۱۰/۱۰٪
درصد جوانه‌زنی	۱۰۰±۰/۰a	۹۰±۵/b	۹۰±۳/۰b	۹۰±۵/۰b	۸۰±۸/۰c
وزن تر (گرم)	۳/۱۷±۰/۸۶	۲/۲۲±۰/۱۱ a	۱/۶۸±۰/۴۸	۱/۹۹±۰/۱۹ ab	۱/۲۱±۰/۱۰d
وزن خشک (گرم)	۰/۶۸±۰/۱۸a	۰/۳۳±۰/۱b	۰/۳۸±۰/۰۹bc	۰/۱۹±۰/۰۹cd	۰/۱۷±۰/۰۷d
هیپوکوتیل	۳/۵۶±۱/۱a	۲/۳۰±۱/۲۵b	۲/۳۳±۱/۳۲b	۱/۱۵±۰/۸۵c	۰/۶۲±۰/۱۵d
طول نو ساقه (cm)	۱۸/۳۳±۳/۶۴a	۸/۹±۵/۹۵b	۶/۶۷±۴/۵bc	۵/۲۵±۴/۱۹bc	۳/۵±۴/۰c
مجموع	۲۱/۸۹±۳/۸a	۱۱/۷۵±۵/۷۳b	۹/۰±۵/۶۶b	۷/۴۱±۴/۷۱bc	۴/۲±۴/۱۲c
طول ریشه اصلی (cm)	۱۰/۶۳±۱/۱a	۱۱/۹±۲/۸۴a	۱۲/۰±۱/۵۹a	۱۰/۷۸±۱/۶۴a	۱۰/۵±۲/۸۸a
تشکیل برگ (فراوانی نسبی)	۱/۰±۰/۰a	۱/۰±۰/۰a	۱/۰±۰/۰a	۰/۷۸±۰/۴۴a	۰/۵۱±۰/۶۲a
جفت برگ اول	۱/۰±۰/۰a	۰/۸±۰/۴۲ab	۰/۶۷±۰/۵ab	۰/۶۷±۰/۵ab	۰/۵۴±۰/۵۲b
جفت برگ دوم	۱/۰±۰/۰a	۰/۳۳±۰/۵b	۰/۳۳±۰/۵b	۰/۳۳±۰/۱۱b	۰/۰۸±۰/۲۸c
جفت برگ سوم	۰/۵±۰/۵۳a	۰/۰±۰/۰b	۰/۰±۰/۰b	۰/۰±۰/۰b	۰/۰±۰/۰b
جفت برگ چهارم	۰/۲۵±۰/۴۶a	۰/۰±۰/۰b	۰/۰±۰/۰b	۰/۰±۰/۰b	۰/۰±۰/۰b
جفت برگ پنجم					

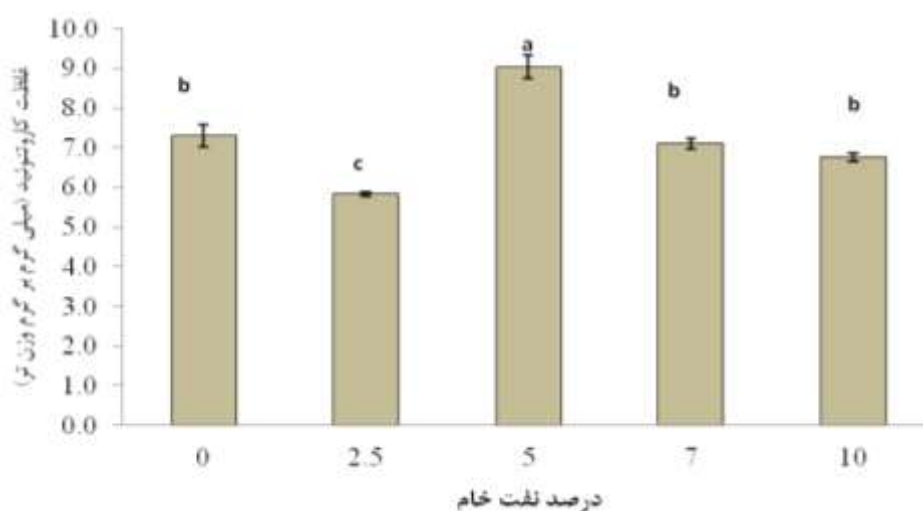
## اثر تیمار نفت بر رنگیزه‌های گیاهی

بر اساس نتایج به دست آمده، تیمار نفتی در پایین‌ترین غلظت سبب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل، پروتوپورفیرین، منیزیم پروتوپورفیرین، پروتوکلروفیلید و کلروفیل b گردید. محتوای کلروفیل کل در غلظت‌های ۵/۰، ۷/۵ و ۱۰/۰ درصد کاهش نشان داد (شکل ۲). از بین پیش سازهای مسیر بیوسنتزی کلروفیل، مقدار منیزیم پروتوپورفیرین و پروتوکلروفیلید در تیمارهای ۵ و ۷/۵ و ۱۰ درصد نفتی نسبت به شاهد کاهش نشان داد اما در غلظت ۱۰ درصد نفتی افزایش معنی‌دار در محتوای پروتوپورفیرین مشاهده شد.

مقدار کاروتنوئیدها در پایین‌ترین غلظت تیمار نفتی (برخلاف کلروفیل کل) نسبت به شاهد به صورت معنی‌دار کاهش نشان داد و در غلظت ۵ درصد، افزایش معنی‌داری در مقدار کاروتنوئیدها نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۲. مقدار کلروفیل و پیش سازهای مسیر بیوسنتزی آن در برگ گیاه حرا، چهار ماه پس از جوانه‌زنی و رشد در خاک حاوی غلظت‌های مختلف نفت. ستون‌های با حروف غیرمشابه بر اساس آزمون دانکن بیانگر اختلاف معنی‌دار با یکدیگر هستند ( $P \leq 0.05$ ). پروتوپورفیرین، ppix، پروتوکلروفیلید، mgpp، منیزیم پروتوپورفیرین، pchld، پروتوکلروفیلید، Chl a، کلروفیل a، Chl b، کلروفیل b، Chl T، کلروفیل کل.



شکل ۳. مقدار کاروتنوئید کل در برگ گیاه حرا، چهار ماه پس از جوانه‌زنی و رشد در خاک حاوی غلظت‌های مختلف نفت. ستون‌های با حروف غیرمشابه بر اساس آزمون دانکن بیانگر اختلاف معنی‌دار با یکدیگر هستند ( $P \leq 0.05$ ).

### اثر نفت بر مقادیر عناصر

غلظت عناصر در برگ و ریشه نمونه‌های شاهد و نمونه‌هایی که در غلظت ۵ درصد نفت در خاک رویانده شده بودند؛ مورد ارزیابی قرار گرفت. انتخاب غلظت ۵ درصد به این دلیل بود که الف) اثرات فیزیولوژیک نفت در این غلظت کاملاً مشهود بود. ب) در غلظت‌های بالاتر از ۵ درصد شکل‌گیری و رشد برگ‌های جدید به شدت محدود می‌شد. بیوماس برگ به شدت تحت تأثیر قرار می‌گرفت و حجم نکروزه شدن بافت برگ نیز بالا بود. ضمن اینکه به تدریج برگ‌های پایینی (برگ‌های پیرتر) از بین می‌رفتند؛ بنابراین غلظتی انتخاب شد که در آن با هم سن بودن برگ‌ها، امکان مقایسه وجود داشته باشد. ج) غلظت ۵ درصد در میانه غلظت‌های تیمارهای مورد استفاده قرار دارد؛ بنابراین یک نماینده مناسب برای آلودگی نفتی به نظر می‌رسد. د) افزایش نسبی زی‌توده ریشه و ارتباط احتمالی آن با انباشت و یا سمیت عناصر یکی از عواملی بود که باعث شد بر روی این غلظت متمرکز شویم.

عناصر بر اساس نقش‌هایی که در فیزیولوژی گیاه دارند؛ به چهار دسته اصلی تقسیم‌بندی می‌شوند (Taiz et al., 2015). بر این اساس و برای توصیف تغییر در محتوای عناصر مختلف و اجتناب از پراکنده نویسی، از این دسته‌بندی استفاده شد. مابقی عناصر نیز در یک گروه مجزا با نام سایر عناصر ذکر گردید (جدول ۳).

#### اثر نفت بر عناصری که جزء ترکیبات کربن دار هستند

از میان عناصر نیتروژن و گوگرد که در این گروه قرار می‌گیرند آنالیز ICP-MS مقدار گوگرد را مشخص نمود. نتایج نشان داد، مقدار گوگرد تحت تیمار ۵ درصد نفت، اندکی از نمونه شاهد کمتر بود. درحالی‌که غلظت آن در ریشه تحت تیمار نفتی حدود ۲/۴ برابر کمتر از نمونه شاهد بود که می‌تواند نشان‌دهنده محدودیت ایجادشده در جذب این عنصر باشد (جدول ۳).

#### اثر نفت بر عناصری که در ذخیره انرژی و تمامیت ساختمانی اهمیت دارند

فسفر، بور و سلنیوم در این گروه قرار می‌گیرند. از بین عناصر این گروه تنها غلظت فسفر مشخص شد. نتایج نشان داد که در حضور نفت، مقدار فسفر در مقایسه با ریشه نمونه شاهد کاهش و در برگ افزایش یافته بود (جدول ۳).

#### اثر تیمار نفتی بر عناصری که به صورت یونی باقی می‌مانند

در برگ دانه رست‌های حرای تحت تیمار نفتی، افزایش در مقدار عناصر منگنز و کلسیم (۲ برابر)، منیزیم (حدود ۱/۶ برابر) و پتاسیم (۱/۱۵ برابر) نسبت به شاهد مشاهده شد. مقدار پتاسیم و کلسیم در ریشه تحت تیمار نفتی افزایش و محتوای منگنز و منیزیم نسبت به نمونه شاهد کاهش نشان داد (جدول ۳).

#### اثر تیمار نفتی بر عناصر شرکت‌کننده در واکنش‌های اکسایش و کاهش

مقدار روی و آهن در برگ نمونه‌های تحت تیمار نفتی تقریباً با نمونه‌های شاهد یکسان بود، اما مقدار این دو عنصر و به‌ویژه آهن (۴ برابر بیشتر از شاهد) در ریشه افزایش یافت. مقدار مس در برگ گیاهان تحت تیمار نفتی نسبت به نمونه‌های شاهد بیشتر و در ریشه کمتر بود. از طرفی، مولیبدنیوم کاهش چشمگیری را در هر دو اندام در مقایسه با شاهد نشان داد (جدول ۳).

#### اثر تیمار نفتی بر مقدار سایر عناصر

نتایج افزایش مقدار آلومینیوم (Al)، آرسنیک (As)، باریوم (Ba)، سرب (Ce)، دیسپورسیوم (Dy)، گادولونیوم (Gd)، لانتانوم (La)، نئودیمیوم (Nd)، وانادیوم (V) و توریوم (Th) در ریشه نمونه‌های تحت تیمار ۵ درصد نفتی را نسبت به نمونه شاهد نشان داد. مقدار آلومینیوم، کروم، سدیم و وانادیوم در برگ گیاه تحت تیمار نفت نسبت به نمونه شاهد کاهش نشان داد. مقدار کادمیوم (Cd)، کبالت (Co)، سدیم (Na) و استرانسیوم (Sr) ریشه در تحت تیمار نفتی نسبت به نمونه شاهد کمتر بود.

مقایسه مقدار آرسنیک، باریوم، سرب و استرانسیوم بین گیاه تحت تیمار و نمونه شاهد نشان داد که غلظت آن در برگ افزایش یافته است (جدول ۳).

**جدول ۳.** مقدار عناصر ( $\mu\text{g/g}$ ) در ریشه و برگ نهال شاهد و روپانده شده در غلظت ۵ درصد نفت گیاه حرا. گروه بندی در متن ذکر شده است. میزان شدت رنگ پس زمینه در سلول های رنگی جدول نشان دهنده بزرگ تر بودن عدد در آن نسبت به سلول مقابل است، رنگ پس زمینه سفید در هر ردیف یعنی در مقایسه میزان عنصر بین نمونه شاهد و تیمار تفاوتی مشاهده نشده است.

گروه	عنصر	ریشه	ریشه	برگ	برگ	گروه	عنصر	ریشه	ریشه	برگ	برگ	
		شاهد	% نفت	شاهد	% نفت			شاهد	% نفت	شاهد	% نفت	
گروه ۱	S	۶۸۷۶	۲۸۳۹	۵۵۵۵	۵۴۲۷	گروه ۵	La	۱	۲	۱	۱	
		گروه ۲	P	۲۰۱۰	۱۸۳۲		۵۴۱۹	۵۶۲۵	Li	۱<	۱<	۱<
گروه ۳	K			۲۷۳۱۵	۴۰۷۹۶		۴۰۵۸۱	۴۶۶۳۷	Lu	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<
		Ca	۱۰۲۳۷	۱۳۶۵۱	۶۷۹۳		۱۳۷۳۱	Na	۱۹۱۵۵	۱۵۱۲۷	۹۷۲۳	۹۰۷۸
		Mg	۸۵۰۲	۶۰۳۳	۴۱۷۸		۶۶۵۴	Nb	۱<	۱<	۱<	۱<
		Mn	۵۸۵	۱۷۸	۴۲		۸۶	Nd	۱/۴	۱/۸	۱/۱	۱/۱
گروه ۴	Zn	۳۹	۴۴	۴۷	۴۷		Pb	۳	۳	۱<	۱<	
		Fe	۹۷۶/۲	۳۹۹۸/۸	۲۲۱/۴		۲۲۰/۱	Pr	۰/۳۱	۰/۳۹	۰/۲۲	۰/۲۲
		Cu	۱۳	۸	۲۱		۲۵	Rb	۵	۵	۷	۷
		Ni	۳	۲	۱<		۱<	Sb	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵
گروه ۵	Mo	۱/۴	۰/۵	۰/۹	۰/۶		Sc	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	
		Ag	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<		۰/۱<	Se	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵
		Al	۱۲۲۵	۱۸۹۴	۳۲۳		۱۱۵	Sm	۰/۱۷	۰/۲۵	۰/۱	۰/۱
		As	۲/۹	۱۰/۳	۱/۳		۱/۶	Sn	۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۳
		Ba	۱۶	۲۷	۵		۸	Sr	۴۰۷	۲۹۱	۲۱۲	۳۸۷
		Be	۰/۲<	۰/۲<	۰/۲<		۰/۲<	Ta	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<
		Bi	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<		۰/۱<	Tb	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<
		Cd	۰/۲	۰/۱	۰/۱		۰/۱	Te	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<
		Ce	۳	۴	۲		۳	Th	۰/۳۵	۰/۴۱	۰/۲۷	۰/۲۶
		Co	۷/۶	۳/۹	<۱		<۱	Ti	۱۰<	۱۰<	۱۰<	۱۰<
		Cr	۱۳	۱۳	۸	۶	Tl	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	
		Cs	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	Tm	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	
		Dy	۰/۱۳	۰/۱۹	<۰/۵	<۰/۵	U	۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	
		Er	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	V	۱۳	۱۶	۵	۳	
		Eu	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	۰/۱<	W	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	
		Gd	۰/۱۹	۰/۲۵	۰/۰۹	۰/۰۹	Y	۱/۷	۲/۲	۱/۳	۱/۳	
Hf	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	Yb	۰/۱	۰/۱	<۰/۵	<۰/۵			
In	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	<۰/۵	Zr	<۵	<۵	<۵	<۵			

### بحث

نتایج این تحقیق نشان داد ریشه و برگ گیاه حرا در حضور غلظت های مختلف نفت خام واکنش فیزیولوژیکی متفاوت نشان می دهند. این واکنش ها و درجه تأثیر پذیری فیزیولوژیکی در مواردی مانند جوانه زنی، زی توده، مقدار رنگیزه ها، غلظت عناصر موجود در ترکیبات آلی کربن دار، محتوای عناصر ضروری دخیل در انرژی سلولی، غلظت یون هایی که در واکنش های اکسایشی



و کاهش دخیل هستند و نیز به‌طور کلی در نیمرخ یونی عناصر مشهود است. کاهش درصد جوانه‌زنی تا تیمار ۱۰ درصد نفت نسبت به شاهد، حاکی از تأثیر بازدارندگی نفت خام بر این شاخص است. جلوگیری از جوانه‌زنی و کاهش رشد جوانه به دنبال آلودگی نفتی وابسته به غلظت و گونه گیاهی گزارش شده است (Banks and Schultz, 2005). بیشتر تحقیقات صورت گرفته در زمینه کاربرد مواد نفتی و یا مشتقات آن‌ها در خاک، بیانگر اثرات منفی این مواد بر جوانه‌زنی بذور می‌باشد (Frick *et al.*, 1999; Banks and Schultz, 2005; Gaskin *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2007) جوانه‌زنی نیز در برخی گونه‌های مانگرو گزارش شده است (Naidoo *et al.*, 2010). Adam و Duncan (۲۰۰۲)، علت کاهش در میزان جوانه‌زنی بذور در اثر آلودگی سوخت‌های دیزلی را اثر جزء فرار آن ارزیابی کردند. آن‌ها همچنین اثر این نوع سوخت‌ها را در ایجاد یک مانع فیزیکی که جلوی ورود آب و اکسیژن به درون دانه را می‌گیرند و مانع جوانه‌زنی بذرها می‌شوند؛ مهم ارزیابی کردند. این احتمال نیز وجود دارد که برخی هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای از غشاء سلولی عبور کرده و سبب ایجاد سمیت برای جنین بذر و نهایتاً مرگ آن شوند (Chaineau *et al.*, 1997).

نفت با چسبیدن به سطح ریشه، مانع از رسیدن آب و اکسیژن به ریشه می‌شود. در این شرایط، از رشد گیاه ممانعت می‌شود و رشد ریشه نسبت به نو ساقه (shoot) تحریک می‌گردد (Hsiao and Xu, 2000). گزارش‌های پیشین نشان داده‌اند که هیدروکربن‌های نفتی می‌توانند سمی باشند و به‌طور معناداری زی‌توده گیاه را کاهش دهند (Kulakow *et al.*, 2000; Robson *et al.*, 2002; Tesar *et al.*, 2002). در پژوهش حاضر، کاهش زی‌توده کلی مشاهده گردید و نتایج این تحقیق با مشاهدات دیگر پژوهشگران همخوانی دارد (Youssef, 2002; Tam *et al.*, 2005). افزایش رشد ریشه در غلظت‌های پایین‌تر نفت (۲/۵ و ۵ درصد) ممکن است ناشی از پاسخ‌های تنشی باشد (Merkel *et al.*, 2004) و یا اینکه می‌توان آن را به‌عنوان استراتژی گیاه برای جذب آب و مواد مغذی تعریف نمود (Frick *et al.*, 1999).

کلروفیل نقش بسیار مهمی در فیزیولوژی گیاه بازی می‌کند و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده فشارهای محیطی وارد بر گیاه شناخته شده است. کارتنوئید نیز دارای نقش حفاظت‌کننده از فتوسنتز در برابر تخریب نوری و یا رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (Taiz *et al.*, 2015). نتایج به‌دست‌آمده از اثر منفی نفت در مقدار کلروفیل کل در توافق با یافته‌های سایر پژوهشگران است (Ambreen *et al.*, 2016; Yong and Tam, 2007; Baruah *et al.*, 2014). Al-Hawas و همکاران (۲۰۱۲)، نشان دادند که با افزایش غلظت نفت، مقدار کلروفیل a، کلروفیل b (و کلروفیل کل) و کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی نیز توسط Njoku و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است. افزایش مقدار پروتوپورفیرین هم‌زمان با کاهش مقدار سایر پیش‌سازهای کلروفیل و کلروفیل کل در غلظت ۱۰ درصد نشانه بلوکه شدن مسیر بیوسنتزی کلروفیل از پروتوپورفیرین به منیزیم پروتوپورفیرین (کلاته شدن با منیزیم) است؛ اما با توجه به کاهش همه پیش‌سازها در غلظت‌های ۵ و ۷/۵ درصد به نظر می‌رسد؛ ورودی اولیه مسیر از گلوتامات به پروتوپورفیرین و یا فعالیت آنزیم‌های مسیر تحت تأثیر قرار گرفته باشد (شکل ۱). جالب اینکه کلروفیل a کمتر از کلروفیل b تحت تأثیر قرار گرفته است. توجه به این نکته حائز اهمیت به نظر می‌رسد که با افزایش سطح آلودگی نفتی نسبت کلروفیل a به کلروفیل b (Chl a/b) افزایش یافت (۰/۸۴).  $R^2=$  که این افزایش بیشتر مربوط به کاهش مقدار کلروفیل b است تا افزایش کلروفیل a. شرایط تنشی مختلف عموماً اثر منفی بر محتوای رنگیزه‌ها در گیاهان دارند. بسته به گونه گیاه و توانایی آن‌ها در تحمل تنش، برخی از گیاهان می‌توانند در تنش‌های ملایم مانند تنش شوری (Khan *et al.*, 2009; Akram and Ashraf, 2011) و تنش خشکی (Pirzad *et al.*, 2011; Hamada, 2001) مقدار کلروفیل خود را افزایش دهند. به‌طور کلی تغییر محتوای کلروفیل در اثر تنش ممکن است؛ ناشی از اشکال در بیوسنتز و یا تشدید سرعت تخریب آن باشد. اما طی فرایند فروزینگی (degradation) کلروفیل، کلروفیل b ممکن است به کلروفیل a تبدیل شود که نتیجه آن افزایش محتوای کلروفیل a خواهد بود (Eckardt, 2009). نکته دیگر اینکه عموماً تحت شرایط تنش خشکی، کاهش محتوای کلروفیل b، بیشتر از کلروفیل a می‌باشد؛ بنابراین نسبت Chl a/b به نفع کلروفیل a است (Jaleel *et al.*, 2009; Jain *et al.*, 2010). با توجه به عدم دسترسی کافی گیاه به آب در خاک آلوده به نفت (Ashraf, 1999) پاسخ‌های مشابه با تنش خشکی در حضور نفت، دور از ذهن نیست.

تغییر در مقدار عناصر بخش‌های مختلف گیاه تحت تنش نفتی پیش‌تر گزارش شده است (Shukry et Agbogidi et al., 2007; al., 2013). جدول ۴ مقایسه‌ای از یافته‌های این تحقیق با گزارش‌های سایر پژوهشگران در گیاهان مختلف که بر روی سطح مختلف خاک آلوده به نفت رشد داده شده‌اند، ارائه داده است. به‌عنوان نمونه Shukry و همکاران (۲۰۱۳)، نشان دادند که مقدار کلسیم در ریشه گیاه *Simmodsia chinensis* تحت تیمار نفتی افزایش یافت که با یافته‌های این تحقیق همخوانی دارد. محتوای منیزیم در برگ و به‌ویژه در ریشه گیاه *S. chinensis* تحت تیمار نفتی کاهش یافت، درحالی‌که در حرا مقدار این یون در برگ افزایش و در ریشه کاهش یافته است. در مجموع به نظر می‌رسد پاسخ‌ها در گیاهان مختلف تحت تأثیر بافت هدف، گونه گیاه و سایر فاکتورها متغیر است و با توجه به محدود بودن آزمایش‌ها و مطالعات دیگر، جمع‌بندی کلی آسان نیست.

باوجود گوگرد، نیکل، وانادیوم، آهن، سرب و سدیم در نفت خام مورد استفاده (جدول ۱)، مقادیر این عناصر در گیاه از الگوی افزایشی - جز در موارد محدودی - پیروی نکرده است که می‌تواند نشان از توانایی گیاه در حفظ هموستازی یونی دست‌کم در مورد این عناصر باشد. توجه به این نکته مهم به نظر می‌رسد که محتوای عناصر (به‌جز کلسیم) در برگ‌های گیاه حرا چندان تحت تأثیر تیمار نفتی قرار نگرفته است و گیاه در محدود کردن ورود عناصر سمی از طریق ترابری بلند مسافت (Long distance transport) به برگ موفق بوده است. در مطالعه حاضر، مقدار کلی (مجموع در برگ و ریشه) عناصر کلسیم (۱/۶ برابر) و آهن (۳/۵ برابر) در دانه رسته‌هایی که در شرایط تیمار ۵ درصد نفت در خاک رشد داده شده بودند؛ به‌شدت افزایش یافت که بخش اعظم این افزایش مربوط به ریشه گیاه بوده است. ممکن است با توجه به عدم رشد کافی اندام هوایی و تلاش گیاه برای حفظ رشد کافی، این تجمع در بخش ریشه‌ای صورت گرفته باشد. مقدار مولیبدنیوم (۲ برابر)، گوگرد (۱/۵ برابر) و منگنز (۲/۳۷ برابر) نسبت به نمونه شاهد کمتر بوده است که بخشی از پاسخ‌های نموی گیاه در عدم رشد کافی نو ساقه و تشکیل برگ‌های جدید ممکن است به‌واسطه کمبود این عناصر بوده باشد؛ چراکه این عناصر دارای نقش‌های فیزیولوژیک مهمی در گیاه می‌باشند (Taiz et al., 2015). تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند اطلاعات بیشتری در خصوص فیزیولوژی جذب این عناصر در شرایط آلودگی نفتی در گیاه حرا را روشن نماید.

**جدول ۴.** جدول مقایسه‌ای نسبت محتوای عناصر در اندام‌های مختلف گیاهان رویانده شده در خاک آلوده به مواد نفتی نسبت به نمونه‌های کنترل (رنگ پس‌زمینه آبی معرف کاهش و رنگ قهوه‌ای معرف افزایش است. رنگ پس‌زمینه سفید عدم تغییر را نشان می‌دهد).

گونه	<i>Avicennia marina</i>		<i>Simmodsia chinensis</i>		<i>Zea mays</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Zea mays</i>
مطالعه	مطالعه حاضر		(Shukry et al., 2013)		(Agbogidi et al., 2007)	(Adesina et al., 2014)	
اندام	ریشه	برگ	ریشه	نو ساقه	بذر	نو ساقه	نو ساقه
Na	۰/۷۹	۰/۹۳	۲/۷	۰/۶۳	۱/۰۳	NA	NA
K	۱/۲۲	۱/۱۵	۰/۵	۲/۹۴	۰/۹۹	NA	NA
Mg	۰/۷۱	۱/۵۹	۰/۹۴	۰/۳۴	۰/۹۰	NA	NA
Ca	۱/۳۳	۲/۰۲	۱/۵۹	۰/۴۵	۰/۹۸	NA	NA
Cu	۰/۶۲	۱/۱۹	۱/۱۲	۶/۴۵	NA	۱/۸۸	۱/۸۷
Mn	۰/۳۰	۲/۰۵	۱/۸۲	۳/۲۰	NA	NA	NA
Zn	۱/۱۳	۱/۰۰	۰/۶۶	۰/۶۶	NA	۵/۴۰	۲/۳۲
Cd	۰/۵	۱/۰۰	۱/۷۵	۱/۷۵	NA	۲/۱۴	۲/۲۱
Pb	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۴۰	۱/۷۱	NA	۱/۶۷	۵/۹۶
P	۰/۹۱	۱/۰۴	NA	NA	۰/۸۴	NA	NA
Fe	۴/۱۰	۰/۹۹	NA	NA	۰/۶۰	۱/۴۹	۱/۶۱
Cr	۱/۰۰	۰/۷۵	NA	NA	NA	۱/۷۲	۴/۱۷
Ni	۰/۶۷	۱/۰۰	NA	NA	NA	۱/۷۲	۱/۱۰

NA = مورد آنالیز قرار نگرفته است.

با توجه به روند روزافزون رخداد نشت‌های نفتی در دنیا، تعیین اثر آلودگی‌های نفتی بر موجودات زنده‌ای که احتمال در معرض قرارگیری آن‌ها بالا است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به دلیل پیچیدگی‌های شیمیایی نفت خام، اثرات آن بر فیزیولوژی گیاه طیف گسترده‌ای از تنش‌ها را در پی دارد. تغییراتی که در زی‌توده اندام‌های مختلف گیاه حرا تحت تیمار نفتی مشاهده گردید؛ نشان از پتانسیل گیاه در تحمل غلظت‌های پایین نفت دارد اما در غلظت‌های بالا رشد گیاه به شدت محدود می‌شود.

آلودگی نفتی سبب تغییرات فیزیولوژیکی در منبع (Source) و مقصد (Sink) اختصاص کربن<sup>۱</sup> است. گیاه حرا در غلظت‌های پایین‌تر نفت، به‌طور کلی بر زی‌توده ریشه افزوده است تا مقدار جذب آب و املاح را افزایش دهد یا اینکه با تخصیص کربن به افزایش ضخامت لایه‌های سلولی، نسبت به محدود کردن ورود مواد سمی اقدام نموده است. تغییر در محتوای کلروفیل به‌عنوان رنگیزه اصلی در فرایند واکنش‌های نوری فتوسنتز و تثبیت کربن، اثر معنی‌دار آلودگی نفتی را بر رنگیزه کمکی کلروفیل b آشکار نمود. کاهش مقدار برخی از عناصر و افزایش برخی دیگر در ریشه و برگ، گواهی از اختلالات ایجاد شده در فرایند جذب عناصر می‌باشد که می‌تواند ناشی از سمیت ایجادشده در اثر نفت و یا بازخورد تنش‌های دیگری مانند خشکی، فلزات سنگین یا کمبود اکسیژن ناشی از چسبیدن نفت به سطح ریشه باشد. بررسی جامع‌تر آن‌ها در سطح مولکولی و بیوشیمیایی می‌تواند نقاط کلیدی مورد هدف این گونه آلودگی‌ها را شناسایی نماید.

## منابع

- Adam, G., Duncan, H. 2002. Influence of diesel fuel on seed germination. *Environmental Pollution*. 120 (2): 363-370.
- Agbogidi, O., Eruotor, P., Akparobi, S., Nnaji, G. 2007. Evaluation of crude oil contaminated soil on the mineral nutrient elements of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agronomy*. 6(1): 188-193.
- Al-Hawas, G., Sukry, W., Azzoz, M., Al-Moaik, R. 2012. The effect of sublethal concentrations of crude oil on the metabolism of Jojoba (*Simmondsia chinensis*) seedlings. *International Research Journal of Plant Science*. 3(4): 54-62.
- Akram, M.S., Ashraf, M. 2011. Exogenous application of potassium dihydrogen phosphate can alleviate the adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Plant Nutrition*. 34: 1041-1057.
- Ambreen, S., Javed, M., Hina, M., Rasul, S., Zafar, Z.U., Manzoor, H., Ogbaga, C.C., Afzal, M., Al-Qurainy, F., Ashraf, M. 2016. Influence of sub-lethal crude oil concentration on growth, water relations and photosynthetic capacity of maize (*Zea mays* L.) plants. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(18): 18320-18331.
- Ashraf, M. 1999. Interactive effects of nitrate and long-term waterlogging on growth, water relations, and gaseous exchange properties of maize (*Zea mays* L.). *Plant Science*. 144(1): 35-43.
- Baek, K.H., Kim, H.S., Oh, H.M., Yoon, B.D., Kim, J., Lee, I.S. 2004. Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth. *Journal of Environmental Science and Health. Part A*. 39(9): 2465-2472.
- Banks, M., Schultz, K. 2005. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. *Water, Air, and Soil Pollution*. 167(1-4): 211-219.
- Baruah, P., Saikia, R.R., Baruah, P.P., Deka, S. 2014. Effect of crude oil contamination on the chlorophyll content and morpho-anatomy of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. *Environmental Science and Pollution Research*. 21(21): 12530-12538.
- Chaîneau, C., Morel, J., Oudot, J. 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *Journal of Environmental Quality*. 26(6): 1478-1483.
- Ebrahimi-Sirizi, Z., Riyahi-Bakhtiyari, A. 2013. Petroleum pollution in mangrove forests sediments from Qeshm Island and Khamir Port—Persian Gulf, Iran. *Environmental Monitoring and Assessment*. 185(5): 4019-4032.
- Eckardt, N.A. 2009. A new chlorophyll degradation pathway. *The Plant Cell*. 21(3): 700-700.

<sup>1</sup> carbon allocation

- Frick, C., Germida, J., Farrell, R. 1999. Assessment of phytoremediation as an in-situ technique for cleaning oil-contaminated sites. Paper presented at the technical seminar on chemical spills.
- Gaskin, S., Soole, K., Bentham, R. 2008. Screening of Australian native grasses for rhizoremediation of aliphatic hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*. 10(5): 378-389.
- Hamada, A.M. 2001. Salicylic acid versus salinity-drought-induced stress on wheat seedlings. *Rostlinna Vyroba-UZPI (Czech Republic)*.
- Holm, G. 1954. Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agriculturae Scandinavica*. 4(1): 457-471.
- Hsiao, T.C., Xu, L.K. 2000. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *Journal of Experimental Botany*. 51(350): 1595-1616.
- Jain, M., Tiwary, S., Gadre, R. 2010. Sorbitol-induced changes in various growth and biochemical parameters in maize. *Plant, Soil and Environment*. 56: 263-267.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P.A., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R.A., Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11(1): 100-105.
- Khan, M.A., Shirazi, M.U., Khan, M.A., Mujtaba, S.M., Islam, E., Mumtaz, S., Shereen, A., Ansari, R.U., Ashraf, M.Y. 2009. Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany*. 41(2): 633-8.
- Kulakow, P.A., Schwab, A., Banks, M. 2000. Screening plant species for growth on weathered, petroleum hydrocarbon-contaminated sediments. *International Journal of Phytoremediation*. 2(4): 297-317.
- Merkel, N., Schultze-Kraft, R., Infante, C. 2004. Phytoremediation in the tropics—the effect of crude oil on the growth of tropical plants. *Bioremediation Journal*. 8(3-4): 177-184.
- Naidoo, G., Naidoo, Y., Achar, P. 2010. Responses of the mangroves *Avicennia marina* and *Bruguiera gymnorrhiza* to oil contamination. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 205(5): 357-362.
- Njoku, K.L., Akinola, M.O., Busari, T.O. 2012. Effect of time of application of spent oil on the growth and performance of maize (*Zea mays*). *African Journal of Environmental Science and Technology*. 6(1): 67-71.
- Noori, A., Maivan, H.Z., Alaie, E., Newman, L.A. 2015. *Leucanthemum vulgare* Lam. crude oil phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*: DOI: 10.1080/15226514.2013.810577
- Onwurah, I., Ogugua, V., Onyike, N., Ochonogor, A., Otitoju, O. 2007. Crude oil spills in the environment, effects and some innovative clean-up biotechnologies. *International Journal of Environmental Research*. 1(4): 307-320
- Pernar, N., Baksic, D., Antonic, O., Grubescic, M., Tikvic, I., Trupcevic, M. 2006. Oil residuals in lowland forest soil after pollution with crude oil. *Water, Air, and Soil Pollution*. 177(1-4)-(284-287).
- Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R., Samadi, A. 2011. Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(12): 2483-2488.
- Porra, R., Thompson, W., Kriedemann, P. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 975(3): 384-394.
- Rashvand, S., Sadeghi, S.M. 2014. Distribution, characteristics and economic importance of mangrove forests in Iran. In: *Mangrove Ecosystems of Asia*. Springer, New York, NY. pp. 95-126.
- Robson, D.B., Knight, J.D., Farrell, R.E., Germida, J.J. 2003. Ability of cold-tolerant plants to grow in hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*. 5(2): 105-123.
- Shukry, W.M., Al-Hawas, G.H.S., Al-Moaikal, R.M.S., El-Bendary, M. 2013. Effect of petroleum crude oil on mineral nutrient elements, soil properties and bacterial biomass of the rhizosphere of jojoba. *British Journal of Environment and Climate Change*. 3(1): 103-118.

- Standard Operation Procedure Analysis of Major, Minor and Trace Elements in Plant Tissue Samples with ICP-OES and ICP-MS Soil & Plant Analysis Laboratory University of Wisconsin – Madison <http://uwlab.soils.wisc.edu> October 2005.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I.M., Murphy, A. 2015. Plant Physiology and Development. 6<sup>th</sup> edition. Sinauer Associates, Incorporated.
- Tam, N.F., Wong, T.W., Wong, Y. 2005. A case study on fuel oil contamination in a mangrove swamp in Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*. 51(8): 1092-1100.
- Tesar, M., Reichenauer, T.G., Sessitsch, A. 2002. Bacterial rhizosphere populations of black poplar and herbal plants to be used for phytoremediation of diesel fuel. *Soil Biology and Biochemistry*. 34(12): 1883-1892.
- van Bochove, J., Sullivan, E., Nakamura, T. 2014. The importance of mangroves to people: A call to action. United Nations Environment Programme.
- Wardrop, J., Butler, A., Johnson, J. 1987. A field study of the toxicity of two oils and a dispersant to the mangrove *Avicennia marina*. *Marine Biology*. 96(1): 151-156.
- Yong, Y., Tam, N. 2007. Effects of used lubricating oil on two mangroves *Aegiceras corniculatum* and *Avicennia marina*. *Journal of Environmental Sciences*. 19(11): 1355-1360.
- Yang, C.M., Chang, K.W., Yin, M.H., Huang, H.M. 1998. Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. *Taiwania*. 43(2): 116-122.
- Youssef, T. 2002. Physiological responses of *Avicennia marina* seedlings to the phytotoxic effects of the water-soluble fraction of light Arabian crude oil. *Environmentalist*. 22(2): 149-159.
- Zhang, C., Leung, K., Wong, Y., Tam, N. 2007. Germination, growth and physiological responses of mangrove plant (*Bruguiera gymnorrhiza*) to lubricating oil pollution. *Environmental and Experimental Botany*. 60(1): 127-136.