

اثر تغذیه سیلیکون بر برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه یونجه (*Medicago sativa*) تحت تنش سمیت تولوئن در شرایط هیدروپونیک

معصومه شریفی^۱، امیرحسین خوشگفتار منش^۱، فائزه قناتی^{۲*} و محمد حسین اهتمام^۳
^۱ گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ^۲ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس،
^۳ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۶/۰۴)

چکیده:

سیلیکون (Si) به عنوان یک عنصر ضروری در تغذیه گیاهان شناخته نشده است اما بسیاری از اثرهای مفید آن در بهبود تحمل گیاه در شرایط تنش‌های محیطی در گیاهان گزارش شده است. تولوئن یک ماده آلی سمی بوده که به طور گسترده در منابع آبی یافت می‌شود. بنابراین، حضور این ترکیب یک تنش محیطی برای گیاهان اطراف بسیاری از صنایع می‌باشد. هدف از این پژوهش که در محیط آبکشت انجام شد، بررسی تاثیر کاربرد Si (۱ میلی مولار) بر کاهش خسارت ناشی از تیمار تولوئن در گیاه یونجه بود. گیاهچه‌های یونجه در محلول‌های غذایی دارای Si (۱ میلی مولار) و بدون Si رشد داده شده و به مدت ۳۰ روز در معرض تولوئن در سه سطح ۰، ۲۲۵ ppm و ۴۵۰ ppm قرار گرفتند. تولوئن اثر معنی‌داری بر کاهش وزن مرطوب شاخساره و ریشه و ارتفاع شاخساره و طول ریشه یونجه داشت. در حضور تولوئن، مقدار محتوای نسبی آب برگ، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و غلظت آهن و روی ریشه و شاخساره، کاهش یافت. سمیت تولوئن با افزایش معنی‌دار مقدار نشت یونی سبب افزایش خروج یون‌های آهن و روی از غشاء سلول‌های ریشه شد. براساس نتایج این پژوهش استفاده از Si با غلظت یک میلی مولار در شرایط تیمار تولوئن، سبب افزایش کارایی مصرف آب در گیاه شده همچنین درصد نشت یونی غشا ریشه را کاهش داد و با افزایش غلظت کلروفیل، آهن و روی در برگ، توانایی گیاه برای استفاده مؤثرتر از نور را افزایش داد. براساس نتایج این پژوهش کاربرد ۱ میلی مولار Si با بهبود بخشیدن بسیاری از ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه یونجه سبب کاهش خسارات ناشی از تنش سمیت تولوئن گردید و در نهایت رشد گیاه را افزایش داد.

کلمات کلیدی: تولوئن، سیلیکون، شاخص‌های رشدی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی، یونجه.

مقدمه:

آلودگی خاک به هیدروکربن‌های نفتی به شکل وسیع در اطراف تأسیسات اکتشاف و پالایش و به شکل موضعی در مسیرهای انتقال این مواد مشاهده شده است (Cupers et al., 2002). هیدروکربن‌های آروماتیک، ترکیبات حلقوی سیرنشده‌ای هستند که غلظت بالایی در نفت خام دارند. در ساختار این ترکیبات حداقل باید یک حلقه شامل سه پیوند دوگانه برای اطلاق آروماتیک، وجود داشته باشد (Neff, 1979).

آلودگی هیدروکربن‌های نفتی و آثار آن، از جمله مشکلات مهم زیست‌محیطی در جهان امروز به شمار می‌رود. هیدروکربن‌های نفتی یکی از متداول‌ترین گروه از آلاینده‌های آلی پایدار در محیط می‌باشند. این ترکیبات از احتراق ناقص مواد آلی، سوختن زغال سنگ، سوخت‌های فسیلی و نشت ترکیبات نفتی از پالایشگاه‌های نفت و گاز در محیط زیست به وجود می‌آیند. در ایران

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: ghangia@modares.ac.i

آمریکا به عنوان یک ترکیب آلاینده‌ی خطرناک معرفی شده است (USEPA, 2008). با توجه به افزایش احتمال آلودگی تولوئن در اکوسیستم‌های مختلف به ویژه منابع آبی و اراضی کشاورزی در مناطق صنعتی، بررسی اثر تنش‌های ناشی از این آلاینده بر گیاهان و یافتن راهکارهای موثر جهت حفاظت اکوسیستم اهمیت یافته‌است. اثر سمیت هیدروکربن‌های آروماتیک مختلف بر گیاهان طی چند دهه‌ی گذشته بررسی شده است اما اطلاعات بسیار کمی در زمینه اثر سمیت تولوئن بر گیاهان وجود دارد. با توجه به ویژگی‌های شیمیایی تولوئن، این ترکیب به سهولت می‌تواند وارد ریشه گیاه شده و به اندام‌های هوایی گیاه انتقال پیدا کند. تولوئن یک ترکیب به نسبت آبریز است و امکان جذب و انتقال آن توسط ریشه گیاه وجود دارد (Environment Agency, 2009; USEPA, 2008). کاهش معنی‌دار رشد و عملکرد ذرت، گندم و یونجه در شرایط آلودگی تولوئن در خاک گزارش شده‌است (ECB, 2003; Komex, 2002).

یکی از راهکارهای کاهش اثرهای زیانبار تنش‌های محیطی مانند آلودگی هیدروکربن‌های نفتی، مدیریت بهینه تغذیه معدنی گیاهان است. در همین ارتباط، نقش برخی عناصر غذایی مفید نظیر Si مورد توجه متخصصان تغذیه گیاهی قرار گرفته‌است. اگر چه ضرورت Si در تغذیه گیاهان اثبات نشده است اما بسیاری از اثرهای مفید آن بر رشد و سلامت گیاهان گزارش شده‌است. این عنصر در افزایش فتوسنتز و استقامت اندام‌های گیاهی، افزایش رشد و توسعه ریشه، افزایش رشد و کیفیت میوه، کاهش نرخ تبخیر و تعرق، افزایش کارایی مصرف آب و بهبود تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارد (Epstein, 1999; Gao et al., 2006). Si در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی مولار سبب افزایش تحمل گیاهان مختلف در شرایط تنش‌ها شده‌است (Epstein, 1999; Hattori et al., 2008). سیلیکون به عنوان علامتی برای واکنش‌های دفاعی گیاه در برابر تنش‌ها می‌باشد. این عنصر با اتصال به گروه‌های هیدروکسیل پروتئین‌ها در انتقال علامت ایجاد تنش نقش داشته و سبب تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود

هیدروکربن‌های حلقوی با وزن ملکولی پایین (بنزن، تولوئن، آنتراسن و نفتالین) دارای یک، دو یا سه حلقه بنزن هستند. این گروه بسیار سمی بوده اما خاصیت سرطان‌زایی کمی دارند. هیدروکربن‌های حلقوی با وزن ملکولی زیاد (بنزوآپیرن، بنزو سی فنانترون و دی بنزو پیرن) از چهار، پنج یا شش حلقه تشکیل شده‌اند که دارای سمیت پایین و سرطان‌زایی بالا هستند (Neff, 1979). وجود این ترکیبات در محیط رشد گیاه سبب ایجاد تنش‌های مختلف در گیاه می‌شود. هیدروکربن‌های نفتی با کاهش درصد جوانه‌زنی، شدت تنفس و فتوسنتز سبب کاهش زیست‌توده گیاهان مختلف شده‌است (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007).

سمیت آروماتیک‌های سبک تک حلقه‌ای برای گیاهان بیشتر از هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای سنگین می‌باشد که دلیل این امر زیست‌فراهمی بیشتر آن‌ها است (Chaineau et al., 1997). ترکیبات آروماتیک تک حلقه‌ای به دلیل وزن مولکولی کمتر، در آب نسبتاً محلول هستند و از این طریق امکان انتقال آنها به گیاه و خطر سمیت آنها برای گیاه بیشتر است (Chaineau et al., 1997).

تولوئن ($C_6H_5CH_3$) از هیدروکربن‌های تک حلقه‌ای آروماتیک است و به عنوان یک ماده‌ی اولیه و همچنین حلال شیمیایی به مقدار زیاد در صنایع ساخت دارو، رنگ و رزین و در مصرف سوخت موتورها استفاده می‌شود (Environment Agency, 2009). تولوئن مایعی بی‌رنگ و آتش‌گیر است و یکی از پانزده ماده شیمیایی خطرناک شناخته شده در بنزین می‌باشد که مقدار این ترکیب در بنزین بیش از ۳۵ درصد حجمی گزارش شده‌است (ECB, 2003). حلالیت تولوئن در آب ($20-25^{\circ}C$) حدود 0.47 گرم در لیتر می‌باشد (ECB, 2003; Environment Agency, 2009). EPA غلظت مجاز برای آب آشامیدنی را 0.04 تا 0.8 گرم در لیتر اعلام کرده‌است (USEPA, 2008). سالانه مقدار زیادی تولوئن، به عنوان یک ماده شیمیایی مهم در دنیا تولید و مصرف می‌شود و در نتیجه احتمال پخشیدگی این ترکیب در محیط وجود دارد (Neff, 1979). تولوئن توسط آژانس حفاظت محیط زیست

ملاحظه‌ای در کاهش خسارت ناشی از تنش‌های محیطی دارد. همچنین تأمین مقدار کافی عناصر غذایی ممکن است از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان، سبب بهبود رشد و افزایش استحکام و تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی شود (خوشگفتار منش، ۱۳۸۶). به همین سبب بررسی اثر تغذیه مناسب بر تغییرات احتمالی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و شاخص‌های رشدی گیاهان در شرایط تنش آلودگی هیدروکربن‌های نفتی ضروری به نظر می‌رسد. اطلاعات به دست آمده برای یافتن روش‌های نوین و موثر جهت کاهش اثرهای تنش، ضروری است. پژوهش حاضر با هدف بررسی نقش تغذیه Si در کاهش خسارت ناشی از تولوئن بر ویژگی‌های رشد، وضعیت آبی گیاه، غلظت آهن، روی و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه یونجه انجام شده است. در این آزمایش از گیاه یونجه (*Medicago sativa*) رقم رهنان با توجه به تحمل نسبی یونجه در مقابل هیدروکربن‌های نفتی در مقایسه با گیاهان آفتابگردان و فسکیو پابلند، استفاده شد (دریابگی زند و همکاران، ۱۳۸۵؛ شهریاری و همکاران، ۱۳۸۷).

مواد و روش‌ها:

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی در سه تکرار و سه تیمار در محیط آبکشت و در مرکز پژوهشی کشت بدون خاک در شرایط گلخانه ای در دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا شد.

به منظور جوانه زنی و رشد اولیه، بذره‌های گیاه یونجه (*Medicago sativa*) رقم رهنان در شن کاملا شسته شده کاشته و با آب مقطر آبیاری شدند. پس از ۱۴ روز، دانه رست‌ها به ظروف محتوی محلول غذایی جانسون منتقل شدند. در طول دوره‌ی کشت هر هفته محلول غذایی تعویض شد و pH محلول‌ها نیز به طور منظم اندازه‌گیری شده و در صورت کاهش یا افزایش آن، به ترتیب به وسیله اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم در محدوده ۵/۷ تا ۶ نگه‌داشته شد. پس از اعمال تیمارها، در هر نوبت تعویض هفتگی محلول‌های غذایی، تیمار تولوئن در غلظت‌های مشخص افزوده می‌شد.

(Epstein, 1999; Horvath et al., 2007). Si در بسیاری موارد با تحریک رشد، تغییر در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده و کاهش فعالیت ROS ها در سلول‌های گیاهی موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شود (Epstein, 1999; Liang et al., 1999). این عنصر دارای اثر-های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی عمده‌ای بر روی سیستم دفاعی گیاهان است. سیلیکون کارایی مصرف آب را نیز افزایش می‌دهد (Gao et al., 2006). Si در دیواره‌های سلولی اپیدرم در هر دو سطح برگ تجمع می‌یابد. در نتیجه تلف شدن آب از کوتیکول کاهش می‌یابد. (Gao et al., 2006). علاوه بر این، Si از شدت تعرق گیاه نیز می‌کاهد و از این طریق تحمل گیاه در برابر تنش‌های خشکی و گرما را افزایش می‌دهد (Epstein, 1999; Gao et al., 2006).

در خاک‌های آلوده با ترکیبات آلی، گیاهان همزمان با دو تنش متفاوت کمبود عناصر غذایی و سمیت ترکیبات آلی روبرو هستند (Liu et al., 2009). با توجه به اهمیت خسارت ناشی از آلودگی هیدروکربن‌های نفتی بر رشد و عملکرد گیاهان، اطلاعات کافی از نحوه اثر آلاینده‌های هیدروکربنی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و غلظت عناصر غذایی مهم در گیاهان وجود ندارد. عناصر ریز مغذی آهن و روی به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مشارکت دارند (خوشگفتار منش، ۱۳۸۶). در شرایط تنش با کاهش رشد ریشه، کاهش جذب آب و ایجاد اختلال در سایر فرآیندهای جذب و انتقال عناصر، گیاه به طور فزاینده‌ای با کمبود عناصر ریز مغذی آهن و روی مواجه می‌گردد. کمبود عناصر آهن و روی در شرایط تنش‌ها سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده و در نتیجه حساسیت گیاهان نسبت به تنش‌ها افزایش می‌یابد (خوشگفتار منش، ۱۳۸۶). بنابراین بررسی غلظت این عناصر در گیاهان تحت تنش اهمیت دارد.

گیاهان برای سازگاری با انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی از روش‌ها و مکانیسم‌های متفاوتی استفاده می‌کنند (Marti et al., 2009). تغذیه صحیح گیاهان نقش قابل

خوانده شد و غلظت آنها بر اساس روابط زیر محاسبه شد.

$$a \text{ کلروفیل } (\mu\text{gr ml}^{-1}) = 12/7(A_{663}) - 2/69(A_{645})$$

$$b \text{ کلروفیل } (\mu\text{gr ml}^{-1}) = 22/9(A_{645}) - 4/68(A_{663})$$

$$\text{کارتونیدها } (\mu\text{gr ml}^{-1}) = \frac{1000(A_{645}) - 1/82(chl a) - 85/02(chl b)}{198}$$

برای اندازه گیری مقدار نشت یونی ریشه‌های گیاه از روش Yan و همکاران (۱۹۹۶) استفاده شد. نمونه‌های ریشه ی ۱ سانتی متری در ارلن‌های حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند. پس از گذشت ۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC1). نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه جوشانده شده و سپس تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خنک شدند و قابلیت هدایت الکتریکی هر نمونه اندازه‌گیری شد (EC2). در نهایت درصد نشت یونی از رابطه زیر محاسبه شد.

$$EL (\%) = (EC1/EC2) \times 100$$

تجزیه آماری داده‌های آزمایش با نرم افزار SAS انجام گرفت. و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث:

اثر تیمارهای مختلف بر عملکرد وزن تر شاخساره و ریشه یونجه در جدول ۱ نشان داده شده‌است. در حضور و عدم Si، تیمار تولوئن سبب کاهش وزن مرطوب شاخساره و ریشه یونجه شد و این کاهش در سطح ۴۵۰ ppm تولوئن معنی دار بوده‌است. با افزایش غلظت تولوئن در محلول غذایی ارتفاع شاخساره و طول ریشه کاهش یافت و این کاهش در سطح ۴۵۰ ppm تولوئن در حضور و عدم سیلیکون نسبت به شاهد معنی دار بود اما تغذیه Si این روند کاهشی را تعدیل کرد و این اثر در سطح ۴۵۰ ppm تولوئن معنی دار بود (جدول ۱).

مطالعات نشان داده‌است که وجود هیدروکربن‌های نفتی در خاک مانع از رشد مناسب و عملکرد بالا در آفتابگردان، ذرت، کتان، جو دو سر و یونجه شده است (رضازاده کته سری و همکاران، ۱۳۹۰؛ شهریاری و همکاران، ۱۳۸۷؛ کیارستمی و همکاران، ۱۳۹۲).

تغذیه Si سبب افزایش عملکرد وزن تر شاخساره و ریشه

در روز چهاردهم از زمان انتقال دانه رست‌ها، تولوئن در سه سطح ۰، ۲۲۵ ppm و ۴۵۰ ppm و با غلظت‌های ۰ و ۱ میلی مولار از نمک سیلیکات سدیم ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)، به محلول‌های غذایی تیمارها افزوده شد. پس از گذشت ۳۰ روز از زمان اعمال تیمارها گیاهان جهت سنجش ویژگی‌های مختلف برداشت شدند. پس از برداشت، طول ریشه و ارتفاع شاخساره اندازه‌گیری شد و بخش ریشه از شاخساره جدا شد و وزن تر ریشه و شاخساره اندازه‌گیری شد. شاخساره و ریشه هر گیاه به صورت مجزا و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس نمونه‌های خشک شده آسیاب گردید. نمونه‌های آسیاب شده از شاخساره و ریشه درون کروزه‌های چینی قرار داده شدند. نمونه‌های گیاهی به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد کوره‌ی الکتریکی به خاکستر تبدیل شده و با استفاده از اسید کلریدریک ۲ نرمال حل شد. محلول حاصل از کاغذ صافی واتمن (شماره ۴۲) عبور داده شد و با استفاده از آب دوبار تقطیر شده به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت عناصر آهن و روی در عصاره‌های گیاهی به وسیله دستگاه جذب اتمی (پرکین المر مدل AA 200) اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ (RWC)، سه برگ در هر تکرار برداشت و بلافاصله وزن تر برگ‌ها به صورت کامل اندازه‌گیری شد (FW). به منظور تعیین وزن تورم، برگ‌ها به مدت ۶ ساعت در تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد داخل آب مقطر قرار داده شدند و پس از اندازه‌گیری وزن تورم برگ‌ها (TW)، نمونه‌های برگ به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه خشک کن تهویه دار خشک شده و وزن خشک نمونه‌ها (DW) نیز اندازه‌گیری شد. با استفاده از رابطه زیر مقدار RWC تعیین شد (Mohsenzadeh et al., 2006).

$$RWC\% = (FW - DW) / (TW - DW)$$

جهت اندازه‌گیری غلظت کلروفیل a، b و کارتوتنوئید از روش Arnon (۱۹۴۹) استفاده شد. در این روش رنگیزه‌ها با استفاده از استون ۸۰٪ استخراج و شدت جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر

جدول ۱- اثر تیمار تولوئن و تغذیه Si بر برخی صفات رشدی یونجه.

| رتفاع اندام (سانتیمتر) | وزن تر (گرم در بوته گیاه) | | تولوئن (ppm) | Si (mM) |
|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------|
| | شاخساره | ریشه | | |
| ریشه | شاخساره | ریشه | شاخساره | |
| ۳۰/۰۳ ^b ±۳/۴۵ | ۶۱/۲۶ ^{ab} ±۳/۳۵ | ۴/۶۰ ^{ab} ±۰/۴۹ | ۱۳/۱۱ ^{ab} ±۱/۴۹ | ۰ |
| ۲۸/۱۶ ^{bc} ±۰/۷۶ | ۴۸/۸۳ ^{dc} ±۵/۱۰ | ۳/۸۹ ^{bc} ±۰/۳۵ | ۱۰/۴۹ ^b ±۰/۰۷ | ۲۲۵ |
| ۲۲/۰۰ ^d ±۳/۰۰ | ۴۳/۳۳ ^d ±۳/۵۱ | ۳/۷۰ ^c ±۰/۴۴ | ۶/۶۶ ^c ±۱/۱۳ | ۴۵۰ |
| ۳۴/۷۰ ^a ±۲/۰۸ | ۶۶/۳۳ ^a ±۷/۰۲ | ۵/۳۰ ^a ±۰/۴۳ | ۱۵/۰۱ ^a ±۲/۷۸ | ۰ |
| ۲۸/۳۳ ^{bc} ±۲/۰۸ | ۵۴/۳۳ ^{bc} ±۴/۰۴ | ۴/۳۱ ^{bc} ±۰/۷۹ | ۱۲/۶۰ ^{ab} ±۲/۰۰ | ۱ |
| ۲۵/۴۳ ^{dc} ±۲/۵۵ | ۴۷/۳۱ ^{cd} ±۲/۵۱ | ۴/۰۴ ^{bc} ±۰/۲۷ | ۱۰/۳۰ ^b ±۱/۷۳ | ۴۵۰ |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

(شکل ۱). با حضور Si در محیط رشد ریشه، تاثیر منفی تیمار تولوئن بر محتوای نسبی آب برگ‌ها بی‌اثر شد (شکل ۱). همچنین در تیمار شاهد، تغذیه Si سبب افزایش مقدار محتوای نسبی آب برگ‌ها شد اما این افزایش معنی‌دار نبود.

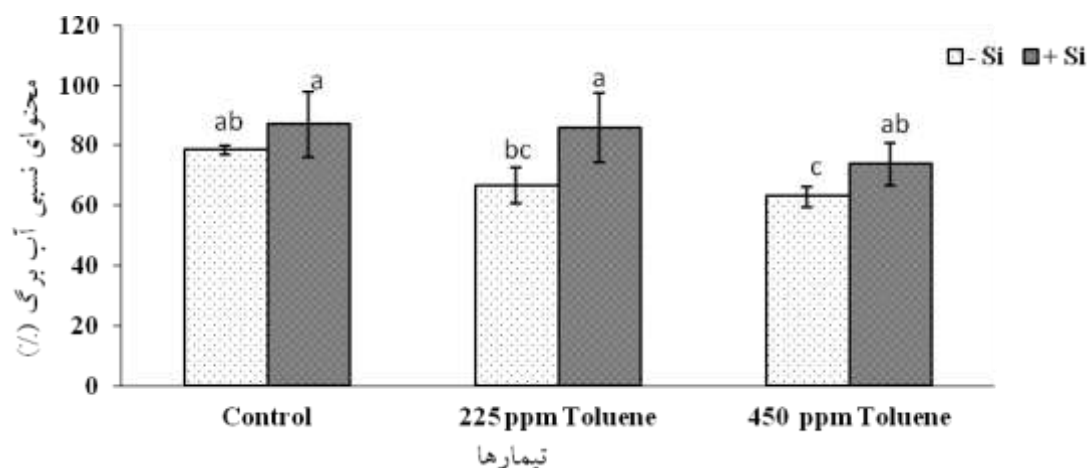
ویژگی‌های آبریزی هیدروکربن‌های نفتی بر توانایی جذب آب توسط ریشه‌ها اثر می‌گذارند و بنابراین آب و مواد غذایی در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرد و سبب ایجاد تنش آبی می‌شود که تنش آبی، نمو برگ را به دو طریق، کاهش در اندازه و تعداد سلول محدود می‌کند (Meudec et al., 2007). مطالعه رضازاده کته سری و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که استفاده از پساب نفتی سبب کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ و شاخص‌های رشد در گیاه کنوکارپوس شده‌است.

سیلیکون در نگهداری آب سلول نقش داشته و همین امر سبب افزایش تحمل و بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می‌گردد. Romero-Aranda و همکاران (۲۰۰۶) رقم MoneyMaker گوجه فرنگی را تحت تنش شوری NaCl (۸۰ میلی مولار) و تغذیه Si (۲/۵ میلی مولار) قرار دادند. نتایج آزمایش آنها نشان داد که در شرایط تنش شوری، کاربرد Si سبب افزایش ۴۰ درصدی محتوای نسبی آب گیاه شد. Si با رسوب در کوتیکول برگ و ایجاد لایه دوگانه سلولز-سیلیسیم باعث کاهش تبخیر و تعرق در گیاه شده و از این طریق اثرهای منفی ناشی از کمبود آب در گیاه را جبران می‌کند (Zhu et al., 2004).

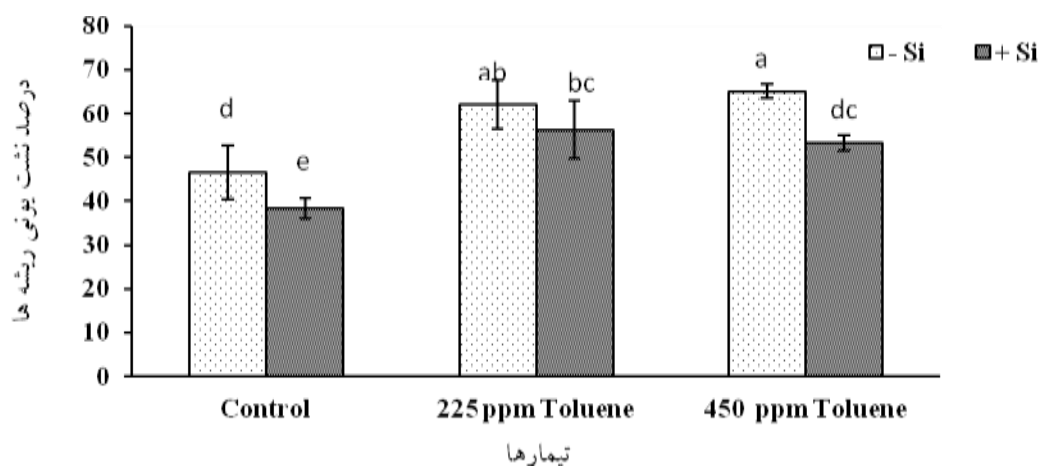
اختلاف در محتوای نسبی آب برگ گندم در شرایط تنش

گیاه در حضور و عدم تولوئن شده و این اثر برای شاخساره یونجه در تیمار ۴۵۰ ppm تولوئن در مقایسه با شاهد (عدم تیمار تولوئن و تغذیه Si) معنی‌دار بوده‌است. نتایج این مطالعه نشان داد که تغذیه Si توانست اثر منفی تنش سمیت تولوئن بر شاخص‌های رشد یونجه را تعدیل کند. اثر مثبت تغذیه Si بر افزایش رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش‌های مختلف گزارش شده‌است. تأثیر تعدیل‌کننده Si بر وزن مرطوب و خشک گیاه ذرت (*Zea mays L.*) و بهبود عملکرد آن تحت تنش خشکی بوسیله Kaya و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شده است. آزمایش Hattori و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان داد که کاهش رشد ناشی از تنش شوری در خیار با کاربرد Si بطور قابل توجهی تعدیل شد. تغذیه Si با افزایش مقاومت گیاه به بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از انواع قارچ‌ها، رشد و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهد (خوشگفتار منش، ۱۳۸۶). یکی از نقش‌های مهم Si در شرایط تنش، افزایش کارایی جذب نور است که پیامد آن تحریک و تشدید فتوسنتز و تولید محصول بیشتر خواهد بود (Hattori et al., 2008)

محتوای نسبی آب برگ به عنوان شاخصی برای نشان دادن وضعیت آب در گیاه استفاده می‌شود. با افزایش غلظت تولوئن در محیط رشد ریشه و در عدم Si، مقدار محتوای نسبی آب برگ‌ها نسبت به شاهد کاهش داشته است و این کاهش در سطح ۴۵۰ ppm تولوئن نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود



شکل ۱- اثر تیمار تولوئن در حضور (+ Si) و عدم Si (- Si) بر مقدار محتوای نسبی آب برگ گیاه یونجه. خطوط نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است و میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون LSD و $P \leq 0.05$).



شکل ۲- اثر تیمار تولوئن در حضور (+ Si) و عدم Si (+ Si) بر مقدار نشت یونی ریشه‌های یونجه. خطوط نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است و میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون LSD و $P \leq 0.05$).

دلایل بالا بودن نشت یونی مربوط به آسیب‌های غشایی است که در حین تنش به گیاه وارد می‌شود. افزایش معنی‌دار مقدار نشت یونی در سطوح مختلف تولوئن نشان داد که حضور تولوئن در محیط رشد ریشه ممکن است سبب پراکسیده شدن لیپیدهای غشای سلولی و از هم پاشیده شدن سلول شده‌است. آسیب غشای سلولی ریشه گیاه در حضور آلودگی هیدروکربن‌های نفتی گزارش شده‌است (رضازاده کته سری، ۱۳۹۰).

حضور Si در محیط رشد ریشه سبب کاهش مقدار نشت یونی غشا شد و این اثر در شاهد و سطح بالای تولوئن معنی

خشکی، ممکن است ناشی از تفاوت در انبساط‌پذیری و ضخامت دیواره سلولی باشد. Si در برگ‌ها در دیواره خارجی سلول‌های اپیدرم برگ به فرم سیلیکا ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) رسوب کرده و با افزایش ضخامت و استحکام بافت، مقدار کاهش آب از طریق روزنه‌ها را محدود می‌کنند (Gong et al., 2005).

مقایسه میانگین اثر تیمار تولوئن بر درصد نشت یونی غشا ریشه نشان می‌دهد (شکل ۲) که سطوح تولوئن مقدار نشت یونی غشا را بصورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داده اند. در بالاترین سطح تولوئن و در عدم Si، مقدار نشت یونی غشا ۱۸/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. یکی از

جدول ۲- اثر تیمار تولوئن و تغذیه Si بر غلظت آهن و روی در گیاه یونجه.

| Si (mM) | تولوئن (ppm) | رنگدانه‌های فتوستتزی برگ یونجه | | | Zn | | Fe | |
|------------|-----------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | کلروفیل a | کلروفیل b | کاروتنوئیدها | شاخصساره | ریشه | شاخصساره | ریشه |
| ۰ | ۰ | ۰/۴۱ ^a ± ۰/۰۰۵ | ۰/۳۴ ^{ab} ± ۰/۰۲ | ۱/۵۸ ^a ± ۰/۲۰ | ۷۰/۱۶ ^{ab} ± ۴/۸۷ | ۲۳۲/۰۸ ^a ± ۱۲/۳۹ | ۳۵/۸۳ ^b ± ۲/۲۶ | ۵۴/۳۳ ^{ab} ± ۲/۱۲ |
| ۲۲۵ | ۲۲۵ | ۰/۳۶ ^c ± ۰/۰۱۲ | ۰/۳۳ ^{abc} ± ۰/۰۵ | ۱/۱۳ ^{bc} ± ۰/۰۸ | ۶۰/۵۰ ^c ± ۳/۲۵ | ۲۰/۴۱ ^{ab} ± ۱۵/۸۵ | ۳۱/۷۵ ^c ± ۱/۵۶ | ۵۲/۹۱ ^{ab} ± ۳/۷۸ |
| ۴۵۰ | ۴۵۰ | ۰/۳۳ ^d ± ۰/۰۲۷۸ | ۰/۲۸ ^c ± ۰/۰۲ | ۱/۰۳ ^c ± ۰/۰۴ | ۵۷/۲۵ ^c ± ۴/۴۴ | ۱۸۴/۲۵ ^b ± ۱۵/۶۵ | ۱۸۳۳ ^e ± ۱/۴۲ | ۵۱/۵۰ ^b ± ۱/۹۵ |
| ۰ | ۰ | ۰/۴۳ ^a ± ۰/۰۰۸ | ۰/۳۸ ^a ± ۰/۰۰۷ | ۱/۶۷ ^a ± ۰/۱۴ | ۷۲/۴۱ ^a ± ۷/۷۵ | ۲۳۶/۹۱ ^a ± ۴/۸۴ | ۴۳/۹۱ ^a ± ۱/۲۵ | ۵۸/۰۸ ^a ± ۵/۹۶ |
| ۲۲۵ | ۲۲۵ | ۰/۳۹ ^b ± ۰/۰۰۱ | ۰/۳۶ ^{ab} ± ۰/۰۱ | ۱/۳۱ ^b ± ۰/۰۲ | ۶۲/۰۰ ^c ± ۲/۳۸ | ۲۰۶/۲۵ ^{ab} ± ۲۱/۵۶ | ۳۵/۹۱ ^b ± ۱/۶۲ | ۵۳/۸۳ ^{ab} ± ۱/۶۶ |
| ۴۵۰ | ۴۵۰ | ۰/۳۵ ^{cd} ± ۰/۰۰۷ | ۰/۲۹ ^{bc} ± ۰/۰۰ | ۱/۰۶ ^c ± ۰/۰۵ | ۶۵/۸۳ ^{ab} ± ۵/۹۶ | ۱۸۳/۵۸ ^b ± ۳۳/۷۷ | ۲۴/۳۳ ^d ± ۳/۵۰ | ۵۴/۵۸ ^{ab} ± ۱/۶۶ |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۰.۵٪ آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

دار بود (شکل ۲). بنابراین مقدار آسیب دیدگی غشا در اثر تیمار تولوئن با حضور Si در محلول غذایی کاهش داشته‌است. Si در تکامل ساختمان غشای سلولی ریشه و عملکرد آن تأثیر دارد به طوری که Liang و همکاران (۱۹۹۹) دریافتند که Si در جو با کاهش قابل ملاحظه نفوذپذیری غشاء ریشه سطح پراکسیداسیون چربی‌ها را کم کرده و استقامت چربی‌ها را بالا می‌برد و از این طریق تحمل گیاه در برابر تنش‌های خشکی و گرما را افزایش می‌دهد. Horvath و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که Si با جلوگیری از آسیب تنش اکسیداتیو در غشاء سبب پایداری غشاء و افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش‌ها می‌شود.

در بررسی اثر تیمار تولوئن و تغذیه Si بر مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه یونجه (جدول ۲) مشاهده می‌گردد که با افزایش سطح تیمار تولوئن محتوای کلروفیل برگ کاهش داشته‌است. این کاهش برای کلروفیل a در هر دو سطح ۴۵۰ ppm و ۲۲۵ ppm تولوئن و برای کلروفیل b در سطح ۴۵۰ ppm نسبت به شاهد معنی‌دار بوده‌است. تغذیه Si در شرایط تنش تیمار تولوئن سبب افزایش غلظت کلروفیل شده‌است. اما این افزایش فقط در سطح ۲۲۵ ppm تولوئن برای کلروفیل a معنی‌دار بوده‌است (جدول ۲).

اثر تولوئن بر مقدار کاروتنوئید برگ یونجه معنی‌دار بود و با افزایش غلظت تولوئن در محیط ریشه در حضور و عدم Si، مقدار کاروتنوئید برگ کاهش معنی‌داری داشته‌است (جدول ۲). اگرچه مقدار کاروتنوئید برگ با تغذیه Si افزایش یافت اما این

اثر از نظر آماری معنی‌دار نبوده‌است.

وجود هیدروکربن‌های نفتی در محیط رشد گیاه سبب کاهش قابل توجه مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاه می‌شود (Sadunishvili et al., 2009). اثرهای بنزوپیرین در فتوستتزی و تنفس گیاه از طریق آسیب به کلروفیل و بازدارندگی آنزیمی در انتقال الکترون مشاهده شده‌است (Meudec et al., 2007). کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها در برگ بادام زمینی متناسب با افزایش مقدار نفت در خاک نیز گزارش شده‌است (Peretiemo-Clarke and Achuba, 2007).

یکی از دلایل کاهش رنگدانه‌های فتوستتزی می‌تواند مربوط به حمله‌ی رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیداتیو ایجاد شده در شرایط تنش سمیت تولوئن باشد. Sadunishvili و همکاران (۲۰۰۹) اثر بخار بنزن را در غلظت‌های مختلف بر سلول‌های برگ نشاهای لوبیا بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد در تیمار ۰/۲ و ۰/۴ میلی مولار بنزن، ساختمان کلروپلاست سلول تخریب شده و غشای کلروپلاست و تیلاکوئیدها آسیب دیده و از حالت عادی خارج شده‌است. بنزن سبب تخریب قابل توجه اجزاء سلول‌های برگ لوبیا شده‌است.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که در شرایط تنش سمیت تولوئن (۲۲۵ ppm)، تغذیه Si بر افزایش غلظت کلروفیل a اثر معنی‌دار داشت. Si با رسوب در پهنای برگ باعث افزایش استحکام برگ‌ها و نیز افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ می‌شود (Zhu et al., 2004). اثر تیمار تولوئن بر کاهش غلظت آهن در شاخساره و

ممکن است تیمار تولوئن با افزایش مقدار نشت یونی ریشه، سبب افزایش نشت یون‌های آهن و روی از غشای ریشه شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که در شرایط تنش سمیت تولوئن، حضور ۱ میلی مولار Si در محلول غذایی سبب افزایش غلظت آهن و روی در گیاه یونجه شده است (جدول ۲). نتایج مشابهی نیز در مطالعات Kaya و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی اثر تنش خشکی و تغذیه Si بر گیاه ذرت حاصل شد. در شرایط تنش خشکی، تغذیه Si سبب افزایش قابل توجه جذب عناصر معدنی توسط ذرت شده و در نتیجه رشد و عملکرد گیاه را افزایش داده است. بر اساس نتایج مطالعه Gunes و همکاران (۲۰۰۵) کاربرد Si سبب افزایش جذب و انتقال یون در ذرت (*Zea mays L.*) شده است. Sun و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که تغذیه بهینه Si سبب افزایش رشد و توسعه حجمی و وزنی ریشه‌ها می‌شود که در نهایت، سطح کل جذب کننده عناصر افزایش می‌یابد.

از آنجایی که Si در نگهداری آب سلول نقش داشته و اثر-های منفی ناشی از کمبود آب در گیاه را تعدیل می‌کند احتمالاً در شرایط تنش سمیت تولوئن که گیاه تحت تنش آبی نیز قرار گرفته است (شکل ۱) توانسته با افزایش کارایی مصرف آب به جذب و انتقال بیشتر عناصر آهن و روی کمک کند. در شرایط تنش تولوئن، Si مقدار نشت یونی غشا ریشه را محدود کرده و سبب افزایش غلظت آهن و روی در گیاه یونجه شده است.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تولوئن اثر معنی‌داری بر کاهش شاخص‌های رشدی و صفات فیزیولوژیکی گیاه یونجه داشت. در حضور تولوئن، مقدار محتوای نسبی آب و غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌ها و غلظت عناصر آهن و روی در بافت‌های گیاهی کاهش و درصد نشت یونی غشا ریشه افزایش داشته است. آثار شیمیایی ناشی از هیدروکربن‌های نفتی یک اختلال تدریجی در متابولیسم و رشد و نمو گیاه ایجاد می‌کند.

ممکن است تولوئن مانند سایر هیدروکربن‌های نفتی، با تشکیل یک غشای آب‌گریز بر روی ریشه‌های گیاه جذب و

ریشه یونجه معنی‌دار بود (جدول ۲). افزایش غلظت تولوئن از ۲۲۵ ppm تا ۴۵۰ ppm در محیط رشد ریشه اثر معنی‌داری بر کاهش غلظت آهن شاخساره نداشت. غلظت آهن ریشه یونجه تنها در سطح ۴۵۰ ppm تولوئن در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری داشته است. حضور Si در محلول غذایی سبب افزایش غلظت آهن در شاخساره و ریشه یونجه شد و این اثر در سطح ۴۵۰ ppm تولوئن در شاخساره یونجه معنی‌دار بود (جدول ۲).

اثر تیمارهای تولوئن و تغذیه Si بر غلظت روی توسط شاخساره و ریشه یونجه در جدول ۲ آورده شده است. حضور تولوئن سبب کاهش معنی‌دار غلظت روی در شاخساره یونجه شد. در هر سه سطح تولوئن، حضور ۱ میلی مولار Si در محیط ریشه سبب افزایش معنی‌دار غلظت روی در شاخساره یونجه شد.

غلظت روی در ریشه با افزایش سطح تولوئن در محلول غذایی کاهش یافت اما این کاهش معنی‌دار نبود و تغذیه Si نیز بر غلظت روی در ریشه اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). در حضور و عدم Si، کمترین غلظت روی در شاخساره مربوط به سطح ۴۵۰ ppm تولوئن بوده است که به ترتیب ۳۹ و ۴۹ درصد نسبت به شاهد کاهش داشته است.

از مهمترین اثرهای هیدروکربن‌های نفتی می‌توان به کاهش رشد و تغییر شکل ریشه، همچنین کاهش مقدار ریشه‌های موئین در گیاهان اشاره کرد (Liu et al., 2009). کاهش رشد و تغییر مورفولوژیک ریشه در اثر آلودگی هیدروکربن‌های نفتی و همچنین اثر منفی آبگریزی این ترکیبات بر جذب آب توسط ریشه، سبب کاهش جذب و انتقال آب و عناصر غذایی شده و در نتیجه غلظت عناصر غذایی در بافت‌های گیاهی کاهش می‌یابد. در این مطالعه سمیت تولوئن سبب کاهش رشد و توسعه ریشه شده (جدول ۱) و با توجه به کاهش معنی‌دار درصد محتوای نسبی آب برگ (شکل ۲)، مقدار جذب و انتقال آب در گیاه را کاهش داده است. بنابراین ممکن است یکی از دلایل احتمالی کاهش غلظت آهن و روی در شاخساره و ریشه گیاه مربوط به این تغییرات ایجاد شده در گیاه یونجه باشد. همچنین

نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط سمیت تولوئن، کاربرد ۱ میلی مولار Si، با افزایش کارایی مصرف آب در گیاه (افزایش مقدار محتوای نسبی آب برگ) جذب و انتقال آب و عناصر غذایی محلول در آب را برای گیاه تسهیل نموده‌است. همچنین مقدار نشت یونی ریشه‌ها را کاهش داد و در نهایت با بهبود این فرآیندهای فیزیولوژیک سبب افزایش غلظت آهن و روی در گیاه یونجه شده‌است. همچنین Si با افزایش غلظت کلروفیل برگ، توانایی گیاه را برای استفاده مؤثرتر از نور افزایش داده و در نتیجه سبب افزایش رشد گیاه یونجه شده‌است. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد ۱ میلی مولار Si باعث کاهش خسارات ناشی از تیمار تولوئن گردید. Si سبب بهبود بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه یونجه شد که مقاومت گیاه یونجه را افزایش داد و در نهایت سبب افزایش رشد گیاه شد.

انتقال آب و عناصر غذایی توسط ریشه‌ها را کاهش داده و سبب اختلال در رشد و نمو گیاه شده‌است. تولوئن با کاهش در محتوای نسبی آب برگ سبب کاهش آب مورد نیاز برای فرایندهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک مانند بزرگ شدن سلول، باز شدن روزنه‌ها، جذب و انتقال عناصر غذایی و فرایندهای وابسته به فتوسنتز می‌شود. کاهش در محتوای نسبی آب برگ می‌تواند به علت کاهش دسترسی به آب در شرایط تنش بوده یا اینکه سیستم‌های ریشه‌ای به دلیل کاهش سطح جذب، قادر به جبران آب از دست رفته توسط تعرق نبوده‌است. کاهش غلظت آهن و روی در گیاه یونجه را می‌توان به کاهش جذب و انتقال آب و همچنین بالا بودن نشت یونی ریشه در حضور تولوئن ربط داد. پیامد این تغییرات ایجاد شده در حضور تولوئن، کاهش ظرفیت فتوسنتز گیاه و کاهش رشد یونجه بوده‌است.

منابع:

- رضازاده کته سری، ا.، فتوحی قزوینی، ر.، جعفریان، و. و عبدلی، ل. (۱۳۹۰) بررسی اثر اکسید کلسیم و پساب نفتی بر برخی شاخص‌های رشد، میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ در گیاه *Conocarpus erectus* L. مجله علوم و فنون باغبانی ایران ۲۳۰:۲-۲۱۹.
- کیارستمی، خ.، غفاری، ف. و روانبخش شیردم، ر. (۱۳۹۲) مطالعه رشد و واکنش دفاعی ریشه گیاهان در خاک‌های آلوده به نفت، مجله پژوهش‌های گیاهی ۴: ۵۰۹-۵۰۰.
- خوشگفتار منش، ا. ح. (۱۳۸۶) *مبانی تغذیه گیاه*، چاپ اول، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.
- دریابیگی زند، ع.، نبی بیدهدی، غ. ر.، مهرداد، ن. و شیردل، ر. (۱۳۸۵) توانایی گونه‌های گیاهی مختلف در حذف ترکیبات نفتی از خاک و تأثیر آلودگی نفتی بر رشد این گونه‌های گیاهی، مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست ۴: ۵۷-۴۱.
- شهریاری، م. ح.، ثواقبی فیروزآبادی، غ. و مینایی تهرانی، د. (۱۳۸۷) تأثیر غلظت‌های مختلف نفت خام بر پارامترهای رشد گیاهان فسکیو پابلند (*Festuca arundinaceu*) و یونجه (*Medicago sativa*) در یک خاک آهکی، مجله زراعت و باغبانی ۸۰: ۲۱۰-۲۰۳.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Chaîneau, C. H., Morel, J. L. and Oudot, J. (1997) Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons *Environmental Quality* 26:1478-1483.
- Cupers, C., Pancras, T., Grotenhuis, T. and Rulkens, W. (2002) The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl-B-cyclodextrin and triton x-100 extraction techniques. *Journal of Chemosphere* 46: 1235-1245.
- ECB. (2003) European Union Risk Assessment Report. Toluene. 2nd Priority List, Vol. 30. European Union – Joint Research Centre, European Chemicals Bureau. Available online at: http://ecb.jrc.it/documents/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/toluene report 032.pdf. Accessed 10 October 2008.
- Environment Agency. (2009) Supplementary information for the derivation of SGVs for toluene. Science Report SC050021, Technical Review Toluene. Available online at: <http://www.environment-agency.gov.uk>. Accessed 28 January 2009.
- Epstein, E. (1999) Silicon. *Annual Review of Plant Biology* 50: 641– 664.

- Gao, X., Zou, C., Wang L. and Zhang, F. (2006) Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1637-1647.
- Gong, H. Z., Chen, K., Wang, S., and Zhang, C. (2005) Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Elsevier Science, Shannon, Irland* 169: 313-321.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F. and Guzelordu, T. (2005) Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science* 51: 687-695.
- Hattori, T., Sonobe, K., Inanaga, S., An, P. and Morit, S. (2008) Effects of silicon on photosynthesis of young cucumber seedlings under osmotic stress. *Journal of Plant Nutrition* 31: 1046-1058.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Plant Growth Regulation* 26: 290 - 300.
- Kaya, C., Tuna, L. and Higgs, D. (2006) Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown. Under water stress condition. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1469-1480.
- Komex. (2002) Derivation of revised benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes soil guidelines. Prepared by Komex International Inc. for the Soil Quality Guidelines Task Group of the Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Liang, Y. (1999) Effects of silicon on enzyme and sodium, potassium and calcium concentration in barley under stress. *Plant and Soil* 209: 217-224.
- Liu, H., Weisman, D., Ye, Y., Cui, B., Huang, Y. h., Carmona, A. C. and Wang, Z. h. (2009) An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Sciences* 176: 375-382.
- Marti, M. C., Camejo, D., Fern, N., Garc, N., Rell, R., Ivarez, N., Marques, S., Sevilla, F. and Jiménez, A. (2009) Effect of oil refinery sludges on the growth and antioxidant system of alfalfa plants. *Journal of Hazardous Material* 171: 879-885.
- Meudec, A., Poupart, N., Dussauze J. and Deslandes, E. (2007) Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in *Salicornia fragilis*. *Journal of Science of the Total Environment* 381: 146-156.
- Mohsenzadeh, S., Malboobi, M. A., Razavi, K. and Farrahi-Aschtiani, S. (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (*Poaceae*) to water deficit. *Journal of Environmental and Experimental Botany* 56: 314-322.
- Neff, M. J. (1979) Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Applied Science, LTD, London.
- Peretiemo-Clarke, B. O. and Achuba, F. I. (2007) Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. *Journal of Plant Pathology* 6: 179-182.
- Romero-Aranda, M. R., Jurado, O., and Cuartero, J. (2006) Si Alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Plant Physiology* 163: 847-855.
- Sadunishvili, T., Kvesitadze, E., Betsiashvili, M., Kuprava, N., Zaalishvili, G., and Kvesitadze, G. (2009) Influence of Hydrocarbons on Plant Cell Ultrastructure and Main Metabolic Enzymes, *World Academy of Science, Engineering and Technology* 33: 261-266.
- Sun, C. W., Liang, Y. C. and Romheld, V. (2005) Effects of foliar- and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. *Journal of Plant Pathology* 54: 678-685.
- USEPA. (2008) ECOTOX database [online]. Washington, DC: US Environmental Protection Agency. Available from: <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>.
- Yan, B., Dai, Q., Liu, X., Huang, S., and Wang, Z. (1996) Flooding-induced membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in corn leaves. *Journal of Plant and Soil* 179:261-268.
- Zhu, Z. G., Wei, G. Q., Li, J., Qian, Q. Q. and Yu. J. Q. (2004) Silicon alleviates salt stress and increases antioxidants enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science* 167: 527-533.