

Effect of phenanthrene on physiological parameters and induction of oxidative stress in sunflower plants

Maryam Nemati, Seyed Yahya Salehi-Lisar*, Ali Movafeghi, Rouhollah Motafakkerazad

Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

Nowadays, one of the environmental problems is the production and release of persistent organic pollutants, including polycyclic aromatic hydrocarbons such as phenanthrene, into the environment. In this study, the effect of different concentrations of phenanthrene (0, 50 and 100 mg/L) on growth parameters, photosynthetic pigments, some antioxidant enzymes, and some biochemical activities of the sunflower plant were investigated. Sunflower seeds were cultivated in pots containing perlite and different concentrations of phenanthrene. The water content of pots was adjusted to field capacity using distilled water and kept in the dark for one week. Seedlings were transferred to growth chambers with controlled conditions (25–30 °C, 16/8 h light/dark photoperiod, and relative humidity of 50-60% and light intensity of 80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). After 50 days, plants were harvested and the mentioned parameters were evaluated. Growth parameters of sunflower were decreased at the level of 100 mg/L of phenanthrene. Phenanthrene treatment increased the concentration of chlorophyll a and b as well as carotenoids in sunflower compared to control plants. Concentrations of non-enzymatic antioxidant compounds in treated plants with phenanthrene showed significant changes. The activity of antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), ascorbate, peroxidase (APX) and peroxidase (POX) was significantly increased especially in the root. In conclusion, it seems that phenanthrene toxicity induces oxidative stress in the sunflower, and plants improve their enzymatic antioxidant system to moderate the stress condition. In addition, damage of cell membranes by phenanthrene leads to weakening of plants root system as well as disordering in water and nutrient uptake and finally reduction in the plant growth

Keywords: Catalase, Lipid peroxidation, Peroxidase, Polycyclic aromatic compounds

* Corresponding Author: y_salehi@tabrizu.ac.ir

اثر فناترن بر شاخص‌های فیزیولوژیک و القای تنش اکسیداتیو در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*)

مریم نعمتی، سید یحیی صالحی لیسار^{۲*}، علی موافقی، روح الله متفکر آزاد
گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده

در حال حاضر، یکی از مشکلات زیست‌محیطی ورود ترکیبات آلاینده آلی پایدار نظیر ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای مانند فناترن به محیط زیست است. در این پژوهش اثر غلظت‌های ۰، ۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از فناترن بر شاخص‌های رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت برخی آنزیم‌های پاداکساینده و برخی فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهچه‌های ۵۰ روزه آفتابگردان بررسی شد. بذرهاى آفتابگردان در گلدان‌های حاوی پرلیت دارای غلظت‌های مختلف از فناترن کشت شدند. سپس، گلدان‌ها به حد ظرفیت مزرعه‌ای توسط آب مقطر آبیاری شدند و به مدت ۱ هفته در تاریکی قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی، دانه‌رست‌ها در فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵-۳۰°C، رطوبت ۵۰-۶۰ درصد و شدت نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه قرار گرفتند و پس از ۵۰ روز برداشت شدند. شاخص‌های رشدی گیاه آفتابگردان در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فناترن کاهش معنی‌داری نشان دادند. تیمار فناترن باعث افزایش غلظت کلروفیل a و b و همچنین، کارتنوئیدها در گیاهان تیمار شده نسبت به نمونه‌های شاهد شد. غلظت ترکیبات پاداکساینده غیر آنزیمی نیز در گیاهان تیمار شده با فناترن تغییرات معنی‌داری نشان داد. فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز به‌ویژه در ریشه افزایش معنی‌داری داشت. در مجموع، به نظر می‌رسد که سمیت فناترن باعث القای تنش اکسیداتیو در آفتابگردان می‌شود و گیاه سیستم پاداکسایشی آنزیمی را به منظور تعدیل شرایط تنش افزایش می‌دهد. همچنین، فناترن از طریق آسیب رساندن به غشاهای سلولی در ریشه به تضعیف سیستم ریشه‌ای منجر می‌شود و باعث اختلال در جذب آب و مواد غذایی می‌گردد و در نهایت موجب کاهش شاخص‌های رشدی در گیاه آفتابگردان می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پراکسیداسیون لیپیدی، کاتالاز، هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای

* نگارنده مسئول: نشانی پست الکترونیک: y_salehi@tabrizu.ac.ir، شماره تماس: ۰۹۱۴۹۰۰۳۲۷۲

مقدمه

تنش‌های زیستی و غیرزیستی با القای تولید و انباشت گونه‌های فعال اکسیژن سبب ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و سیستم‌های غشایی می‌شوند و با مهار انتقال الکترون و کاهش فعالیت فتوسنتزی باعث سمیت در گیاه می‌گردند. بنابراین، سازوکارهای کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان نقش مهمی در ایجاد تعادل میان تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن دارند (Anil-kumar *et al.*, 2009). بافت‌های گیاهی به منظور بقا در شرایط تنش‌زا، در طول تکامل سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی خود را برای مقابله با تنش‌های اکسیداتیو گسترش داده‌اند (Esrefoglu, 2012). ترکیبات فنلی از اجزای سیستم پاداکساینده غیرآنزیمی با وزن مولکولی کم جزء متابولیت‌های ثانویه هستند و نقش مهمی در برهم‌کنش بین گیاه و محیط ایفا می‌کنند. در مطالعه Posmyk و همکاران (۲۰۰۷) مشخص شده است که تولید این ترکیبات تحت تنش‌های شدید افزایش می‌یابد و آنها احتمالاً از گیاه محافظت می‌کنند. اما در برخی گونه‌ها، تیمار گیاهان با غلظت‌های بالای ترکیبات سمی می‌تواند تولید متابولیت‌های ثانویه را کاهش دهد. این کاهش می‌تواند به علت سرکوبی آنزیم فنیل‌آلانین آمونیل‌ایز باشد (Creasy, 1976). فلاونوئیدها عمده‌ترین ترکیبات پلی‌فنلی هستند که از مسیر فنیل پروپانویید سنتز می‌شوند و تولید آنها در شرایط تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد و نقش حفاظتی مهمی را در مقابل رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند (Rice-evans *et al.*, 1996). در تمام ارگانسیم‌های هوازی سوپراکسید دیسموتاز می‌تواند با تبدیل

آلودگی آب و خاک یکی از عوامل ایجاد اختلال در محیط‌زیست به شمار می‌رود (Naderi *et al.*, 2012). هیدروکربن‌های نفتی گروه بزرگ و خطرناکی از آلاینده‌ها در محیط‌زیست هستند که تجمع آنها در زنجیره‌های غذایی نگرانی وسیعی را در سطح جهانی ایجاد کرده است. از طرف دیگر، برخی از این ترکیبات حتی در مقادیر کم نیز سمی هستند (Abd-elsalam *et al.*, 2009) و دارای آثار منفی شناخته‌شده بر موجودات زنده از جمله توان سرطان‌زایی می‌باشند (Nikolaeva *et al.*, 2021). هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) از جمله آلاینده‌های آلی هستند که عمدتاً از احتراق ناقص ترکیبات آلی تولید می‌شوند (Arslan *et al.*, 2017). غلظت این ترکیبات در خاک ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیز گزارش شده است (Naderi *et al.*, 2012). در میان آنها، ۱۶ ترکیب به علت سرعت کم تجزیه توسط میکروارگانسیم‌ها و ایجاد سمیت در محیط‌زیست، بیشتر مطرح هستند و به‌عنوان شاخص آلودگی برای این ترکیبات مطرح شده‌اند که از بین آنها می‌توان به نفتالین، فناترن، پیرن و آنتراسن اشاره کرد (Tolosa *et al.*, 2004). فناترن در ساختار خود ۳ حلقه آروماتیک دارد و نسبت به برخی دیگر از انواع PAHs دارای وزن مولکولی پایین‌تر و سمیت کمتری است. این ترکیب ماده‌ای جامد و بی‌رنگ و تقریباً در آب نامحلول است، اما در تعدادی از حلال‌های آلی از قبیل اتانول، بنزن، متانول، تتراکلرید کربن و اسید استیک سرد حل می‌شود (Pradhan *et al.*, 2003).

گل‌دهی، رنگ‌پریدگی و پدیدار شدن نقطه‌های سفید رنگ روی برگ‌ها می‌شوند (Zhang *et al.*, 2010). عدم وجود سیستم پادا کساینده قوی در گیاه سبب می‌شود که گیاهان به شدت تحت تأثیر آثار زیانبار هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای قرار گیرند (Kummerova *et al.*, 2012). افزایش روز افزون فعالیت‌های صنعتی سبب آزادسازی این ترکیبات به محیط‌زیست و موجب آسیب به گونه‌های گیاهی و در نهایت محصولات کشاورزی در آینده خواهد شد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف فناترن، به‌عنوان یکی از فراوانترین PAHs در محیط‌های آلوده، بر رشد و پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه آفتابگردان است.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر:

بذر گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) رقم هیبرید فرخ) از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. برای جلوگیری از آلوده شدن گیاهان به قارچ به‌هنگام کشت در پرلیت، ابتدا بذرها با قارچ‌کش توپسین ام ۷۰٪ آغشته شدند و تا زمان کاشت در دمای ۴ درجه یخچال نگه‌داری گردیدند (Salehi-lisar *et al.*, 2015).

تیماردهی پرلیت و کشت و برداشت گیاهان:

برای تهیه غلظت‌های مورد نظر از فناترن (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، مقدار لازم از آن در اتانول حل شد و سپس محلول‌های به‌دست آمده به پرلیت اسپری گردیدند. پس از مخلوط کردن، پرلیت به مدت ۴۸ ساعت در هوای آزاد قرار گرفت تا

رادیکال سوپراکسید به هیدروژن پراکسید نقش حیاتی در سازوکارهای دفاعی سلول ایفا کند (Bowler *et al.*, 1992). آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از آسکوربیک اسید در کلروپلاست، سیتوزول، میتوکندری و پراکسی‌زوم سلول‌های گیاهی واکنش تبدیل هیدروژن پراکسید به آب را کاتالیز می‌کند. این آنزیم هیدروژن لازم برای احیای هیدروژن پراکسید را از آسکوربات تأمین می‌کند و به ترتیب موجب تشکیل مونودهیدروآسکوربات اسید و دهیدروآسکوربات می‌گردد و آسکوربیک اسید برای شروع چرخه توسط آسکوربات‌ردو کناز احیا می‌شود (Mittler, 2002).

تحقیقات Liu و همکاران (۲۰۰۹) بر گونه آراییدوپسیس (*Arabidosis thaliana*) نشان داده است که تیمار فناترن سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز می‌شود، ولی اثری بر فعالیت آنزیم کاتالاز ندارد. همچنین، ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای در غلظت‌های ۰/۰۲ تا ۲ میکرومولار موجب کاهش جوانه‌زنی در گیاهان خردل، گندم و لوبیا می‌گردند (Banaszkiewicz *et al.*, 2011).

گیاهان می‌توانند هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای را از محیط جذب کنند (Yin *et al.*, 2021) و تحقیقات نشان داده است گیاهانی که در حضور ترکیبات آروماتیک در داخل یا خارج از مناطق صنعتی رشد یابند از لحاظ تکوینی و فیزیولوژیک دچار اختلالاتی از قبیل تغییر شکل کرک‌ها، کاهش رشد ریشه و ساقه، تأخیر در

در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مورد سنجش قرار گرفت (Boominathan and Doran, 2003).

اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید کل:

۰/۱ گرم از نمونه گیاهی در ۵ میلی‌لیتر متانول در یک هاون چینی ساییده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردید و روشنایور برای سنجش فنل کل (Meda *et al.*, 2005) و فلاونوئید کل بر اساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید (Chang *et al.*, 2002)، مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده (پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیس‌موتاز و آسکوربات پراکسیداز):

برای تهیه عصاره آنزیمی نمونه‌های گیاهی با استفاده از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و اسیدیته ۷ هموژن شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردیدند. فعالیت آنزیم پراکسیداز (EC1.11.1.7) مطابق روش Chance و Mehly (۱۹۹۵) و از طریق تست گایاکول و اندازه‌گیری میزان تبدیل آن به تترآگایاکول سنجش شد. در نهایت فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی تترآگایاکول ($25/5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) محاسبه گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز (EC1.11.1.6) مطابق روش Chance و Mehly (۱۹۹۵) و بر اساس کاهش جذب نوری پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجش شد. در نهایت فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن ($40 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) محاسبه گردید. یک واحد فعالیت، مقدار آنزیم لازم برای احیا یک میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در نظر گرفته شد و

اتانول موجود در آن تبخیر شود. عمل تیمار کردن تنها یک‌بار و در شروع آزمایش انجام شد. بذرهاى آفتابگردان ضد عفونی شده در گلدان‌های حاوی پرلیت تیمار شده با فناترن و شاهد کشت شدند. پس از جوانه‌زنی، دانه‌رست‌ها در شرایط فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۰-۶۰ درصد و شدت نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه قرار داده شدند. گیاهان پس از ۵۰ روز برای انجام سنجش‌های مورد نظر برداشت شدند (Salehi-lisar *et al.*, 2015).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد:

وزن تر اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان آفتابگردان به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت میلی‌گرم اندازه‌گیری شد و وزن خشک آنها با ترازوی دیجیتال حساس اندازه‌گیری شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی:

۰/۱ گرم از بافت اندام هوایی گیاهان در ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ در هاون چینی له شد تا عصاره تهیه شود. سپس طیف جذب نوری عصاره‌ها، پس از صاف کردن با کاغذ صافی، در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر نسبت به شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Spekol، شرکت Analytic Jena، آلمان) قرائت شد (Lichtenthaler, 1987).

سنجش مالون‌دی‌آلدئید:

عصاره گیاهی در محلول ۰/۱٪ (W/V) از تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج گردید و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. همزمان، محلول‌های استاندارد با استفاده از ۱ و ۳ و ۳-تترا اتوکسی پروپان تهیه شد و جذب نمونه‌ها

مختلف فناترن کاهش نشان داد و در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از فناترن کاهش معنی‌دار به ترتیب ۸۵/۳ و ۹۲/۹ درصدی نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد ($p \leq 0/05$). وزن خشک اندام‌های هوایی نیز کاهش معنی‌داری در گیاهان تیماریافته با فناترن نشان داد. بیشترین کاهش در وزن خشک اندام‌های هوایی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر به میزان ۳۸/۹ درصد مشاهده شد (جدول ۱). افزایش غلظت فناترن باعث کاهش وزن تر، وزن خشک و طول ریشه شد (جدول ۱). بیشترین کاهش طول ریشه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فناترن به میزان ۴۵ درصد مشاهده شد. هرچند بین دو تیمار فناترن اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. وزن تر ریشه با افزایش غلظت فناترن، کاهش معنی‌داری نشان داد و بیشترین کاهش در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۷۱/۶ درصد) مشاهده شد ($p \leq 0/05$) (جدول ۱). درباره وزن خشک ریشه نیز کاهش معنی‌دار ۶۸/۳ و ۸۵/۴ درصدی به ترتیب در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر فناترن نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد ($p \leq 0/05$) (جدول ۱).

یکی از نخستین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیط کاهش رشد است (Zhang *et al.*, 2011). در این مطالعه مشخص شد که فناترن باعث کاهش درخوردگی و رشد گیاه آفتابگردان می‌شود و بیشترین کاهش شاخص‌های رشد در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد. در این میان کاهش طول ریشه‌چه حاکی از اثر بازدارندگی در جذب آب توسط بذر آفتابگردان است. در حقیقت، فناترن ممکن است با اختلال تدریجی در رشد و نمو و متابولیسم گیاه باعث کاهش طول ریشه‌چه و

فعالیت ویژه آنزیم به صورت واحد بر میلی گرم پروتئین گزارش گردید. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اساس اندازه‌گیری میزان ممانعت از احیا نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) توسط عصاره آنزیمی با کمی تغییرات صورت گرفت (Wang *et al.*, 2012). یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ممانعت ۵۰ درصدی از احیا نور NBT می‌شود، در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون اسید آسکوربیک و کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر سنجش شد (Boominathan and Doran, 2003). فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی آسکوربیک اسید ($2/8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) محاسبه گردید. یک واحد فعالیت آنزیم به صورت مقدار آنزیم لازم برای احیا یک میکرولیتر آسکوربیک اسید در دقیقه در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

تجزیه داده‌ها (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها) توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ با استفاده از روش دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($p \leq 0/05$) انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های رشدی:

تیمار فناترن موجب کاهش رشد گیاه آفتابگردان شد (جدول ۱) به طوری که کاهش ۴۴/۴ درصدی در طول اندام‌های هوایی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در مقایسه با گیاه شاهد مشاهده شد. وزن تر اندام‌های هوایی نیز تحت تأثیر غلظت‌های

کاهش طول ریشه‌چه می‌شود (Meudec *et al.*, 2007). به نظر می‌رسد فناترن نیز با کاهش طول ریشه‌چه باعث کاهش سایر شاخص‌های رشدی نظیر وزن خشک، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه شده است. کاهش نرخ رشد در گیاهان جو، ماشک و سورگوم تحت تیمار آنتراسن نیز گزارش گردیده است (Ahmadi *et al.*, 2013). همچنین، سبحانی و همکاران (۲۰۲۰) کاهش شاخص‌های رشدی تحت تیمار فناترن و پیرن را در گیاهان گندم گزارش کرده‌اند (Sobhani *et al.*, 2020).

جذب آب و مواد غذایی شود (Askari-mehrabadi *et al.*, 2011). تأثیر منفی فناترن، پیرن و نفتالین با دوز بالا بر گیاه (سازو) (*Juncus subsecundus*) پیش از این توسط سایر محققان گزارش شده است (Askari-mehrabadi *et al.*, 2011). در مطالعه دیگری تأثیر هیدروکربن‌ها بر چندین گیاه مختلف (کاهو، گندم، جو، لویا و شبدر) بررسی شد و مشخص گردیده است که خواص آبگریزی هیدروکربن‌های نفتی باعث کاهش فراهمی آب و مواد غذایی برای گیاه و نهایتاً

جدول ۱- تأثیر فناترن بر شاخص‌های رشدی گیاه آفتابگردان.

Table 1- Effect of phenanthrene on growth parameters of sunflower.

ریشه		اندام‌های هوایی		تیمار	
وزن خشک	وزن تر	وزن خشک	وزن تر	طول	تیمار
(میلی گرم)	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(میلی گرم)	(سانتی متر)	
۰/۰±۴۱/۰۲ ^a	۰/۰±۶۷/۰۲ ^a	۸/۰±۸۳/۲۸ ^a	۰/۰±۱۸/۰۳ ^a	۱/۰±۸۴/۱۱ ^a	۱±۱۸/۴ ^a
۰/۰±۱۳/۰۱ ^b	۰/۴۶±۰/۰۵ ^b	۵/۰±۰۳/۰۵ ^b	۰/۰±۱۴/۰۱ ^b	۰/۰±۲۷/۱۲ ^b	۱±۱۲/۵ ^b
۰/۰±۰۶/۰۲ ^b	۰/۰±۱۹/۰۲ ^c	۴/۰±۸۶/۳۱ ^b	۰/۰±۱۱/۰۱ ^b	۰/۰±۱۳/۰۲ ^b	±۱۰/۵ ^b

داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Data are the mean of 3 replications ± standard error. Similar letters in each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).

رنگیزه‌های فتوسنتزی:

نداشت، اما در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی‌داری نشان داد. محتوای کاروتنوئید کل در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از فناترن به ترتیب افزایش ۱۳۶/۴۳ و ۸۱/۳۵ درصدی نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (جدول ۲). تغییرات در محتوای رنگیزه‌ها به ویژه کلروفیل، اطلاعات ارزشمندی در مورد وضعیت فیزیولوژیک گیاهان می‌دهد (Shen *et al.*, 2019) و یکی از عمومی‌ترین آثار ناشی از آلودگی‌ها در گیاهان،

تیمار فناترن در حالت کلی باعث افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه آفتابگردان نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۲). بالاترین غلظت کلروفیل a در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۱۸/۹ درصد بیشتر بود. غلظت کلروفیل b افزایش ۱۸/۳۸ درصدی در تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. محتوای کلروفیل کل در تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر از فناترن تفاوت چندانی با گیاهان شاهد

وظایف دیگری از قبیل حفاظت از سیستم فتوسنتزی، کمک به پایداری پروتئین جمع‌کننده نور و همچنین، حفاظت در مقابل رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند (Joshi and Swami, 2009). در این پژوهش، میزان کارتنوئیدها در گیاهان تحت تیمار در مقایسه با شاهد روند افزایشی داشت که می‌تواند بهترین توجیه برای حفاظت رنگیزه کلروفیل باشد.

زرد شدن برگ‌ها است (Liu *et al.*, 2009). در این پژوهش، تیمار با فتانترن موجب افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شد که با نتایج پژوهش Ali و El-Yemeni (۲۰۱۰) بر گیاه قیچ که در پاسخ به آلودگی هوا مقدار کلروفیل a, b و کل افزایش یافت، همسو بود. افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی احتمالاً به علت کاهش رشد گیاهان تیمار شده با فتانترن است (Alidadi-Khaliliha *et al.*, 2016). کارتنوئیدها علاوه بر نقش ساختاری

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف فتانترن بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه آفتابگردان.

Table 2- Effect of different phenanthrene concentrations on photosynthetic pigments contents of sunflower.

اندام‌های هوایی				تیمار
کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کارتنوئید کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	
۱۹۱/۵±۹۴/۶ ^b	۲۳۲/۲±۱۲/۶۴ ^b	۴۰۹/۰±۴۵/۵ ^b	۵۲/۰±۴۵/۶۸ ^b	شاهد
۲۰۴/۱۱±۳۲/۸ ^b	۲۶۴/۸±۱۳/۳۰ ^a	۴۱۳/۱±۴۵/۳۶ ^b	۱۲۴/۱±۰۱/۴۲ ^a	فتانترن (۵۰ میلی گرم در لیتر)
۴۰۲/۰±۱۵/۹ ^a	۲۴۵/۷±۹۴/۴۲ ^b	۶۴۸/۱±۰۹/۹۸ ^a	۹۵/۰۰±۱۲/۰ ^a	فتانترن (۱۰۰ میلی گرم در لیتر)

داده‌ها میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Data are the mean of 3 replications ± standard error. Similar letters in each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).

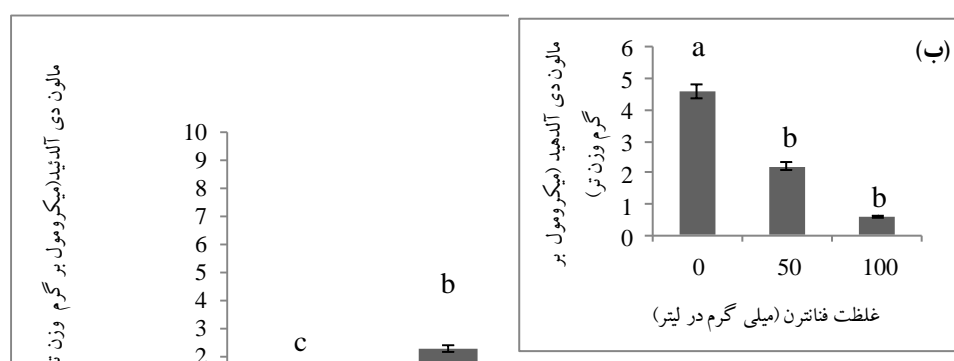
غلظت مالون‌دی‌آلدئید:

اکسیداسیون لیپیدها از جمله آسیب‌هایی است که در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود و یکی از محصولات نهایی آن یعنی مالون‌دی‌آلدئید، به عنوان شاخصی برای ارزیابی شدت تنش در نظر گرفته می‌شود. اختلال در متابولیسم که به عدم تعادل در تولید و مصرف رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها منجر می‌شود، به تدریج باعث افزایش غلظت این ترکیبات می‌گردد (Panda and Choudhury, 2005). در این پژوهش، مشاهده شد که تغییر غلظت

غلظت مالون‌دی‌آلدئید در اندام‌های هوایی گیاهان تیمار شده با فتانترن به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$). میزان این کاهش در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب ۵۲/۰۶ و ۸۶/۹ درصد بود. فتانترن در ریشه باعث افزایش معنی‌دار ۹۹/۴۵ درصدی غلظت مالون‌دی‌آلدئید در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نسبت به گیاهان شاهد شد ($p \leq 0.05$) (شکل ۱).

داراست و مانع از خسارت اکسیداتیو به گیاه می‌شود، درحالی‌که تجمع بالای گونه‌های فعال اکسیژن آزاد در غلظت‌های بالای فناترن بر سیستم پاداکسایشی گیاه غلبه کرده و به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی منجر شده است. نتایج مشابهی در مطالعه تأثیر فناترن روی گل سرخ گزارش شده است (Bhuyan *et al.*, 2020).

مالون‌دی‌آلدئید در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان آفتابگردان تیمار شده با فناترن کاملاً متفاوت است. به عبارت دیگر، در ریشه با افزایش غلظت فناترن محتوای مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت و در اندام‌های هوایی کاهش نشان داد (شکل ۱). این نتایج مؤید این مطلب است که سیستم پاداکسایشی ریشه گیاه آفتابگردان در غلظت پایین فناترن به خوبی توانایی از بین بردن رادیکال‌های آزاد را



شکل ۱- محتوای مالون‌دی‌آلدئید در ریشه (الف) و اندام‌های هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 1- Malondialdehyde content in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).

محتوای این ترکیبات در ریشه ۷۵ درصد و در اندام‌های هوایی ۵۰ درصد کاهش یافت (شکل ۳). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از متابولیت‌های ثانویه هستند که به فراوانی در بافت‌های گیاهی یافت می‌شوند و دارای نقش‌هایی از قبیل شرکت در مکانیسم‌های دفاعی گیاه، دخیل در ساخت دیواره‌ی سلولی و در ویژگی‌هایی مانند رنگ، عطر و طعم مؤثر هستند (Hernandez *et al.*, 2006). در شرایط تنش اکسیداتیو، فلاونوئیدها می‌توانند به تولید ترکیبات جاروب‌کننده مانند سمی کوئینون‌ها منجر شوند و کاتالیز واکنش فوق در گیاهان بر

محتوای فنل کل:

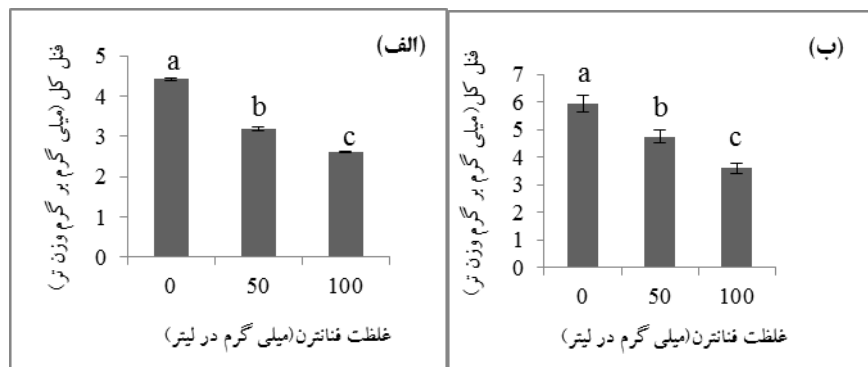
محتوای ترکیبات فنلی به‌طور معنی‌داری در گیاهان تیمار شده با فناترن کاهش یافت ($p \leq 0.05$) به طوری که در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از فناترن محتوای آنها به ترتیب ۲۷/۷۳ و ۲۲/۳۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۲).

محتوای فلاونوئید کل:

تیمار فناترن باعث کاهش معنی‌دار محتوای فلاونوئید کل در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد شد ($p \leq 0.05$)، به طوری که در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از فناترن

شده است و این افزایش به موازات کاهش ترکیبات فنلی است. احتمالاً آنزیم پراکسیداز برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن آزاد ناشی از تنش فتانترن، از اکسیداسیون ترکیبات فنلی به‌عنوان سوپرا استفاده کرده و به کاهش این ترکیبات منجر شده است.

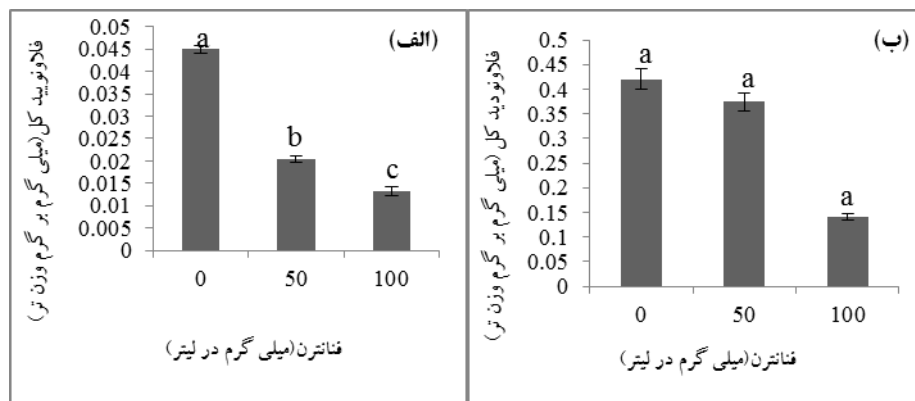
عده آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز است. در واقع ترکیبات فنلی به‌عنوان سوپراکسیداز آنزیم‌های پاداکساینده مانند پراکسیدازها مورد مصرف قرار می‌گیرند (Paskova et al., 2006). در پژوهش حاضر، تنش فتانترن سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه گیاه آفتابگردان



شکل ۲- محتوای فنل کل در ریشه (الف) و اندام‌های هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 2- Total phenol content in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).



شکل ۳- محتوای فلاونوئید کل در ریشه (الف) و اندام‌های هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 3- Total flavonoids content in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).

با تیمار فتانترن افزایش یافت، به طوری که فعالیت آن در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از فتانترن نسبت به گیاهان شاهد

فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده:

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اندام‌های هوایی و ریشه گیاه آفتابگردان به صورت معنی‌داری

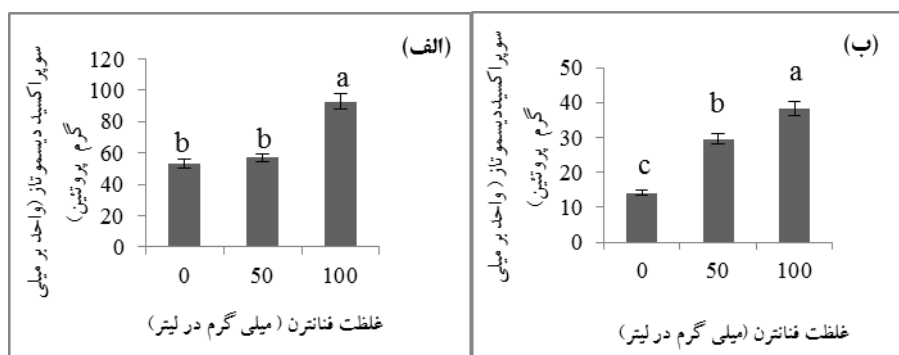
مکانیسم دفاعی مهم در گیاه آفتابگردان باشد. افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان برنج تیمارشده با فناترن و پیرن نیز گزارش شده است که مؤید نتایج کار این پژوهش است (Lin *et al.*, 2009). تنش‌ها عموماً باعث تجمع پراکسید هیدروژن در گیاهان می‌شوند که در غلظت‌های بالا برای سلول‌ها سمی است (Unyayar *et al.*, 2005). در گیاهان سمیت‌زدایی از پراکسید هیدروژن نیاز به فعالیت گروه بزرگی از آنزیم‌های پاداکساینده از قبیل پراکسیدازها دارد که واکنش‌های اکسیداسیون-احیا را کاتالیز می‌کنند (Ghanati and Nemati, 2010). بنابراین، با افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها که در پراکسی‌زوم، کلروپلاست، واکوئل و آپوپلاست حضور دارند، از آثار سمی گونه‌های اکسیژن آزاد بر گیاه جلوگیری می‌شود (Foyer and Noctor, 2005). از این رو، در این پژوهش افزایش فعالیت پراکسیدازها که در راستای تجزیه پراکسید هیدروژن عمل می‌کنند، منطقی است. در این میان، تمایل آسکوربات پراکسیداز به پراکسید هیدروژن زیاد است، زیرا حتی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فناترن، پراکسید هیدروژن تولیدی که طی فعالیت کاتالاز حذف نشده است را جاروب می‌کند (Ghanati and Nemati, 2010). در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و همچنین، ریشه گیاه به‌ویژه در تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فناترن بیانگر این است که فعالیت آنزیم کاتالاز در پراکسی‌زوم نتوانسته است بر میزان پراکسید هیدروژن تولیدی توسط سوپراکسید دیسموتاز غلبه کند و گیاه با بالابردن

به ترتیب ۷۴/۱ و ۱۷۱/۳ درصد بیشتر بود (شکل ۴). آنزیم پراکسیداز در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه آفتابگردان تیمارشده با فناترن در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ولی بین تیمارها (در اندام هوایی) اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p \leq 0/05$). در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فناترن فعالیت آنزیم در ریشه و اندام هوایی گیاهان تیمارشده نسبت به گیاهان شاهد به ترتیب ۵۳/۵۹ و ۷۰/۸۱ درصد افزایش یافت (شکل ۵). فناترن باعث کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه و اندام هوایی گیاهان آفتابگردان شد، به طوری که کمترین فعالیت آنزیم در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از فناترن مشاهده شد که در مقایسه با گیاهان شاهد در ریشه ۹۶/۵ درصد و در اندام‌های هوایی ۹۳/۵ درصد کاهش داشت (شکل ۶). تیمار فناترن در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان آفتابگردان نسبت به گیاهان شاهد شد که به ترتیب ۹۳/۴ و ۵۰/۴ درصد بود ($p \leq 0/05$) (شکل ۷). اما غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فناترن باعث کاهش فعالیت این آنزیم در ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تیمارشده گردید که در اندام‌های هوایی معنی‌دار بود ($p \leq 0/05$).

سوپراکسید دیسموتاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های فعال در سیستم دفاعی پاداکساینده برای مقابله با تنش اکسیداتیو است (Shahid *et al.*, 2014). در این پژوهش، میزان فعالیت آنزیم در اثر تیمار فناترن در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه افزایش نشان داد و به نظر می‌رسد افزایش فعالیت این آنزیم در گیاهان تیمارشده با فناترن یک

تحت تیمار فناترن، کاهش فعالیت کاتالاز گزارش شده است (Salehi-lisar and Deljoo, 2015).

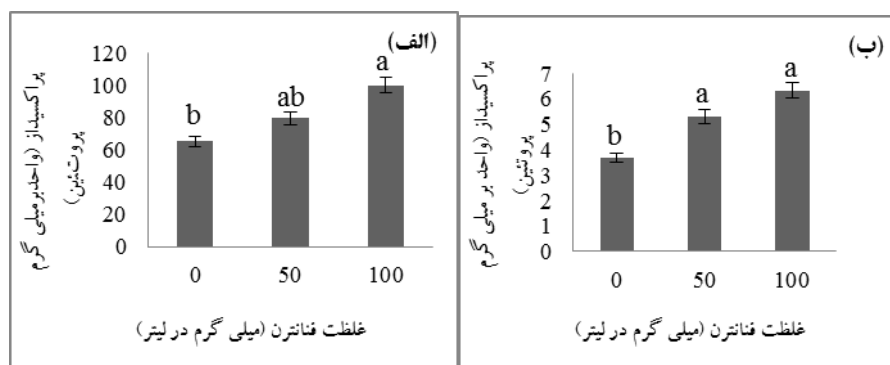
میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز حتی در غلظت کم به منظور سمیت‌زدایی مؤثر پراکسید هیدروژن عمل کرده است. در گندم، یونجه و آفتابگردان



شکل ۴- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ریشه (الف) و اندام هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 4- Superoxide dismutase (SOD) activity in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

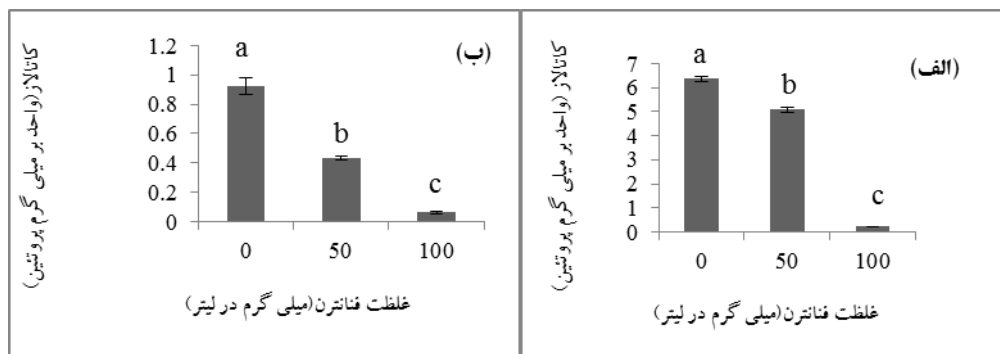
Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).



شکل ۵- فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه (الف) و اندام هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 5- Peroxidase (POD) activity in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

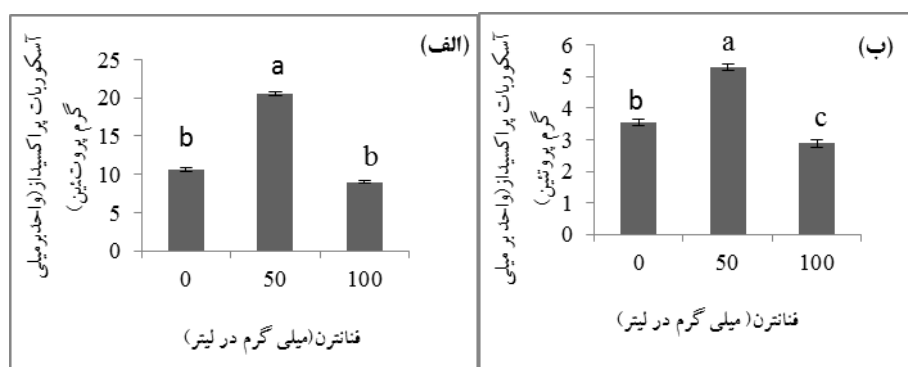
Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).



شکل ۶- فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه (الف) و اندام هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 6- Catalase (CAT) activity in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).



شکل ۷- فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه (الف) و اندام هوایی (ب) گیاه آفتابگردان. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد هستند. حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

Figure 7- Ascorbate peroxidase (APX) activity in roots (A) and shoot (B) of sunflower.

Data are the mean of 3 replications \pm standard error. Similar letters on each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).

ایجاد کرده است و در نهایت به کاهش شاخص‌های

رشد گیاه آفتابگردان منجر شده است.

سپاسگزاری:

نگارندگان از دانشگاه تبریز برای تأمین مالی و امکانات آزمایشگاهی در اجرای این پژوهش صمیمانه قدردانی می‌نمایند.

جمع‌بندی:

افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکساینده در اثر تیمار فنانترون، نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو ناشی از این ترکیب است. اما کاهش میزان فعالیت کاتالاز و از بین رفتن پراکسید هیدروژن تولیدی در اثر تنش حاکی از کاهش مقاومت گیاه آفتابگردان نسبت به این ترکیب است. از طرف دیگر، کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها در اندام هوایی و به دنبال آن افزایش میزان آن در ریشه نیز نشان‌دهنده تجمع بیشتر فنانترون در ریشه است که با تضعیف سیستم ریشه‌ای گیاه، در جذب آب و مواد غذایی اختلال

References

- Abd-elsalam, H. E., Hafez, E. E., Hussain, A. A., Ali, A. G. and El-Hanafy, A. A. (2009) Isolation and identification of three-ring polycyclic aromatic hydrocarbons (Anthracene and Phenanthrene) degrading bacteria. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science* 5: 31-38.
- Ahmadi, M., Alipour, Z. T. and Farrokhan-Firuzi, A. (2013) Investigation of the possibility of phytoremediating a soil contaminated with Anthracene. *Journal of Chemical Health Risks* 3(3): 69-76.
- Alidadi-Khaliliha, M., Dordipour, E. and Barani-Motlagh, M. (2016) Interactive effect of iron and lead on growth and their uptake in Cress (*Lepidium sativum* L.). *Journal of Soil Management and Sustainable Production* 5(4): 41-59.
- Ali, A. A. and El-Yemeni, M. N. (2010) Atmospheric air pollution effects on some exhibited plants at Aljubail industrial City, Ksa. I-physiological characteristics and antioxidant enzymes. *Australian Journal of Basic and Applied Science* 4(16): 1251-1263.
- Anil-Kumar, K., Varaprasad, P. and Vijaya-Bhaskar, A. (2009) Effect of fluoride on catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate oxidase activities in two varieties of mulberry leaves (*Morus alba* L.). *Journal of Earth Science* 1(2): 69-73.
- Arslan, M., Imran, A., Mahmood-Khan, Q. and Afzal, M. (2017) Plant-bacteria partnerships for the remediation of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research* 24: 4322-4336.
- Askari-Mehrabadi, M., Noori, M., Amini, F. and Beigi, F. (2011) Evaluation of germination, growth and chlorophyll content of (*Rubinia pseudoacacia* L.) as affected by petroleum pollution. *Iranian Journal of Plant Biology* 7(3): 41-56. (in Persian).
- Banaszkiewicz, T., Szarek, J. and Wysocki, K. (2011) Biological evaluation of soil contamination around a non-operating pesticide tomb. *Journal of Environmental Studies* 1(20): 485-488.
- Bhuyan, K., Patar, A., Singha, U., Giri, S. and Giri, A. (2020) Phenanthrene alters oxidative stress parameters in tadpoles of *Euphylyctis cyanophlyctis* (Anura, Dicroglossidae) and induces genotoxicity assessed by micronucleus and comet assay. *Environmental Science and Pollution Research* 27(17): 20962-20971.
- Boominathan, R. and Doran, P. M. (2003) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyper accumulator, (*Alyssum bertoloni*). *New Phytologist* 101(2): 131-146.
- Bowler, C., Montagu, M. V. and Inez, D. (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Biology and Plant Molecular Biology* 43(1): 83-116.
- Chanes, B. and Mahely, A. C. (1995) Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology* 2: 764-791.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Creasy, L. L. (1976) Phenylalanine ammonium lyase inactivating system in sunflower system in sunflower

- leaves. *Phytochemistry* 15(5): 673-675.
- Esrefoglu, M. (2012) Experimental and clinical evidence of antioxidant therapy in acute pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology* 18(39): 5533-5541.
- Foyer, C. H. and Noctor, G. (2005) Redox homeostis and antioxidant signaling. A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17(7): 1866-1875.
- Ghanati, F. and Nemati, F. (2010) The positive effect of aluminum on activating the antioxidant system of lisianthus (*Eustoma grandiflora* L.) roots. *Iranian Journal of Plant Biology* 2(2): 41-53. (in Persian).
- Hernandez, I., Alegre, L. and M-Bosch, S. (2006) Enhanced oxidation of Flavan-3-ols and pro anthocyanidin accumulation in water stressed tea plants. *Photochemistry* 67(11): 1120-1126.
- Joshi, P. C. and Swami, A. (2009) Air pollution induced changes in the photosynthetic pigments of selected plant species. *Journal of Environmental Biology* 30(2): 295-298.
- Kummerova, M., Zezulka, S., Vanova, L. and Fiserova, H. (2012) Effect of organic pollutant treatment on the growth of pea and maize seedlings. *Open Life Science* 7(2): 159-166.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Lin, C. C., Liu, J., Liu, L., Zhu, T. C., Sheng, L. X. and Wang, D. L. (2009) Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. *Environmental and Experimental Botany* 65(2-3): 410-416
- Liu, H. D., Weisman, Y. B., Ye, B., Cui, Y. H., Huang, A. and Colon-Carmona, Z. H. (2009) An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in (*Arabidopsis thaliana*). *Journal of Plant Science* 176(3): 375-382.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in *Burkina fasan* honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry* 91(3): 571-577.
- Meudec, A., Poupart, N., Dussauze, J. and Deslandes, E. (2007) Relationship between heavy fuel oil phytotoxicity and polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in *Salicornia Fragilis*. *Science of the Total Environment* 381(1-3): 146-156.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7(9): 405-410.
- Naderi, M., Danesh-shahraki, A. and Naderi, R. (2012) An overview of the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. *Journal of Human Environment* 22: 26-38.
- Nikolaeva, O., Karpukhin, M., Streletskii, R., Rozanova, M., Chistova, O. and Panina, N. (2021). Linking pollution of roadside soils and ecotoxicological responses of five higher plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 208: 1-9.
- Panda, S. K. and Choudhury, S. (2005) Changes in nitrate reductase activity and oxidative stress response in the

- moss polytrichum commune subjected to chromium, copper and zinc toxicity. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(2): 191-197.
- Paskova, V., Hilscherova, K. Felmannova, M. and Blaha, L. (2006) Toxic effects and oxidative stress in higher plants exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their n-heterocyclic derivatives. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25(12): 3238-3245.
- Posmyk, M. M., Kontek, R. and Janas, K. M. (2007) Effect of anthocyanin-rich red cabbage extract on cytological injury induced by copper stress in plant and animal tissues. *Environmental Protection of Natural of Sources* 33: 50-56.
- Pradhan, J. R., Conrad, J. R. and Paterek, S. (2003) Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites. *Soil and Sediment Contamination* 7: 467-48.
- Rice-Evans, C. A., Miller, J. M. and Paganga, G. (1996) Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids free radical. *Biology and Medicine* 20: 933-956.
- Salehi-Lisar, S. Y., Deljoo, S. and Harzandi, A. M. B. (2015) Fluorene and phenanthrene uptake and accumulation by wheat, alfalfa and sunflower from the contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* 17: 1145-1152.
- Salehi-Lisar, S. Y. and Deljoo, S. (2015) Physiological effect of phenanthrene on *Triticum aestivum*, *Helianthus annuus* and *Medicago sativa*. *Eurasian Journal of Biosciences* 9(1): 29-37.
- Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M., and Pinelli, E. (2014) Heavy-metal induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 232: 1-44.
- Shen, Y., Li, J., Gu, R., Zhan, X. and Xing, B. (2019) Proteomic analysis for phenanthrene-elicited wheat chloroplast deformation. *Environment International* 123: 273-281.
- Sobhani, A., Salehi, L. S. and Movafeghi, A. (2020) Comparative study of the phenanthrene and pyrene effects on germination, growth and antioxidant enzymes activity on wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Ecophysiology* 39(11): 136-137.
- Tolosa, I. D. E., Mora, S. J., Fowler, S. W., Villeneuve, J., Bartocci, J. and Cattini, C. (2004) Aliphatic and aromatic hydrocarbons in marine biota and coastal sediments from the Persian Gulf and the Gulf of Oman. *Marine pollution Bulletin* 50: 1619-1633.
- Unyayar, S., Kel, Y. and Cekic, F. O. (2005) The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations. *Plant Soil and Environment* 51: 57-64.
- Wang, Y., Tian, Z., Zhu, H., Cheng, Z., Kang, M., Luo, C., Li, j. and Zhang, G. (2012) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils and vegetation near an e-waste recycling site in south china: concentration, distribution, source, and risk assessment. *Science of Total Environment* 439: 187-93.
- Yin, S., Tian L., Ma, Y. Tan, H., Xu, L., Sun, N., Meng, H. and Liu, C. (2021) Sources and sinks evaluation of PAHs in leaves of *Cinnamomum camphorain* megacity: From the perspective of

land-use types. Journal of Cleaner Production 279: 1-9.

Zhang, Zh., Rengel, Z. and Meney, K. (2010) Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) differentially influence growth of various emergent wetland species. Journal of Hazardous Materials 182: 689-695.

Zhang, X. X., Liu, S., Liu, F., Liu, L., Chen, G., Xu, C., Zhong, P. and Cao, S. U. Z. (2011) Responses of (*Scirpus triqueter*), soil enzymes and microbial community during phytoremediation of pyrene contaminated soil in simulated wetland. Journal of Hazardous. Materials 193: 45-51.