مطالعه تأثیر خاک آلوده به نفت خام بر فعالیت آنزیم آلکالن فسفاتاز در گیاه عدس (*Lens culinaris*)

سعید مینویی[۱]، داریوش مینایی تهرانی[۲،*]، میترا جمشیدی[۲]، زینب یوسفی[۲]، مجید طالبی[۲]، بابک کاوند[۱]، زهرا غفاری[۲]، سحر شادمان[۲]

[۱] تهران، دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده علوم محیطی

[۲] تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۸

چکیده

آلودگی نفتی در خاک همواره سبب آسیب به محیط زیست شده و زندگی گیاهان و جانوران خاک را تحت تأثیر قرار می دهد. آلودگی نفتی به نشت نفت به هنگام استخراج، پالایش و حمل نفت مربوط می شود. نفت می تواند از طریق خاک آلوده وارد آبهای زیرزمینی شده و مزارع کشاورزی و گیاهان مورد استفاده انسان را تحت تأثیر قرار دهد که مستقیماً سلامت غذایی انسان را تهدید می کند. عدس یکی از گیاهانی که بسیار مورد استفاده غذایی انسان است، بنابراین تحقیق بر روی این گیاه دارای اهمیت می باشد. در این مطالعه تأثیر آلودگی نفتی خاک بر رشد و جوانه زنی گیاه عدس و فعالیت آنزیم آلکالن فسفاتاز مورد مطالعه قرار گرفت و سپس تأثیر آلودگی بر فعالیت آنزیم آلکالن فسفاتاز گیاه بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت ۵ درصد آلاینده در خاک سبب تأخیر در جوانه زنی، تغییر در تعداد جوانه ها ، کاهش زیست توده ساقه و ریشه و کاهش طول برگها در گیاه می شود. بنابراین غلظت ۵ درصد، مقدار مناسبی برای بررسی تأثیر آلودگی بر آنزیم می باشد. مشخص شد که فعالیت آنزیم در ریشه گیاه شاهد و آلوده با یکدیگر تفاوت معنی داری را نشان می دهد($p< ۰/۰۵$) . همچنین محاسبه فاکتورهای کینتیکی Km و Vmax نیز در دو نمونه اختلاف معنی داری را نشان داد. با بررسی نتایج پیشنهاد شد که ممکن است ایزوآنزیم آلکالن فسفاتاز در ریشه آلوده گیاه بیان شده باشد که مسئول تفاوتهای مشاهده شده بین نمونه های شاهد و آلوده است.

واژه های کلیدی: آنزیم، گیاه، آلودگی، نفت خام

* نویسنده مسئول، تلفن: ۲۹۹۰۳۱۴۴ ، پست الکترونیکی: D_MTehrani@sbu.ac.ir

مقدمه

آلودگیهای خاک توسط فلزات سنگین و مواد آلی می تواند سبب تغییر خواص فیزیکو شیمیایی خاک شود. در کشورهای تولید کننده نفت، آلودگی خاک توسط نفت خام می تواند در حین حمل، پالایش و استخراج رخ بدهد. نفت می تواند از خاک به آبهای سطحی و زیر سطحی نفوذ کرده و وارد زمینهای کشاورزی شده و سبب آسیب به گیاهان زراعی و موجودات خاک شود. مطالعات زیادی در رابطه با تأثیر نفت بر روی گیاهان انجام شده است. حضور نفت خام در خاک می تواند سبب تأخیر در جوانه زنی، کاهش تعداد جوانه ها، تأثیر در رشد گیاه شود (۱۱ و ۱۵). برخی از گیاهان قادرند غلظتهای بالای نفت را در خاک تحمل کرده و رشد کنند. این گیاهان معمولاً جهت گیاه درمانی خاک آلوده به نفت خام استفاده می شوند (۵، ۶ و ۱۰). گونه های گرامینه و بقولات جزء گیاهانی هستند که توانایی خوبی در گیاه پالایی خاک دارند (۴، ۸ و ۱۲)، گرامینه ها دارای ریشه افشان بوده که به خوبی در خاک

Archive of SID
www.SID.ir

نفوذ کرده و آلودگی خاک را کاهش می دهند (۴) از طرف دیگر بقولات به خاطر قابلیت تثبیت نیتروژن خاک، گونه های مناسبی برای گیاه پالایی می باشند (۷). در این گیاهان رقابتی بین گیاه با جمعیت میکروبی برای به دست آوردن نیتروژن خاک صورت نگرفته که نتیجه آن همکاری مناسبی بین باکتریها و گیاه در جهت حذف و کاهش آلودگی نفتی خاک است (۷). با آنکه مطالعات زیادی در مورد تأثیر نفت بر روی گیاهان مختلف صورت گرفته ولی تاکنون گزارشات اندکی از تأثیر آلودگی نفتی بر روی فعالیت آنزیمهای گیاهی اعلام شده است(۳). در این مطالعه از گیاه عدس که جزء بقولات است استفاده شد و تأثیر نفت بر رشد گیاه و تأثیر آن بر فعالیت آلکالن فسفاتاز گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

آلوده سازی خاک به نفت خام: نفت خام سبک از ناحیه سرکان در غرب ایران تهیه شد. نفت با غلظتهای ۱، ۳ و ۵ در صد به خاک اضافه و به خوبی مخلوط گشت تا کاملاً یکنواخت شود (۱۲) . سپس خاک به گلدانهای ۱ کیلویی انتقال داده شد. از هر غلظت ۵ تکرار آماده کشت و ۵ نمونه نیز بدون آلودگی و به عنوان شاهد تهیه شد. در هر گلدان تعداد ۱۰ دانه عدس کاشته شد و مقدار ۰/۵ گرم کود حیوانی نیز به گلدانها اضافه شد. سپس آب لازم (در حدود ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) برای رشد گیاه به گلدانها داده شد.

بررسی رشد گیاه: پس از ۱۵ روز از کشت گیاه، تعداد جوانه ها در هر گلدان شمارش شد. طول ساقه گیاه پس از یک ماه اندازه گیری شد سپس گیاه از خاک خارج شده و مقدار زیست توده ریشه و ساقه آن وزن گردید. با توجه به تأثیر غلظت ۵ درصد آلودگی نفتی بر روی گیاه، نمونه های ۵٪ برای مقایسه فعالیت آنزیمی ریشه و ساقه با شاهد انتخاب شد. ریشه و اندام هوایی نمونه های ۵ درصد و شاهد در دمای ۲۰- درجه برای تعیین فعالیت آنزیمی نگهداری شد.

تعیین فعالیت و بررسی کینتیکی آنزیم آلکالن فسفاتاز: ریشه و ساقه گیاه پس از خروج از دمای ۲۰- درجه توسط هموژنایزر شکسته شد و سپس در دور 5000 x g و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب که شامل سلولهای شکسته نشده بود از مایع رویی جدا شد و سوپرناتنت به عنوان سوپ فاقد سلول برای فعالیت آنزیمی استفاده شد.

جهت تعیین فعالیت آنزیم مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سوپ سلولی به ۲/۸ میلی لیتر بافر ۰/۱ مولار تریس با pH ۸/۵ اضافه شد و سپس مقدار ۰/۱ میلی لیتر نیز محلول پارا نیترو فنیل فسفات (pNPP) به عنوان سوبسترای آنزیم اضافه شد و تغییرات جذب تولید محصول واکنش یعنی پارا نیتروفنل در طول موج ۴۱۰ نانومتر ثبت گردید. جهت محاسبات کینتیکی سوبسترا با غلظتهای مختلف (۳,۵ تا ۱۸ میلی مولار) به محلول آنزیم و بافر اضافه شد و جذب در زمانهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۰و ۱۵ دقیقه ثبت شد. از اعداد به دست آمده منحنی عکس غلظت بر علیه عکس سرعت (Lineweaver- plot) رسم و سرعت ماکزیمم (Vmax) و Km آنزیم محاسبه شد.

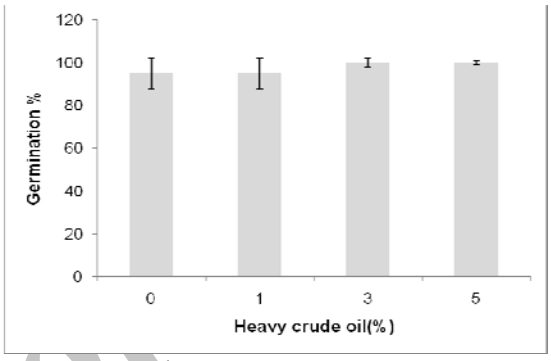
فعالیت آنزیم نیز با توجه به اینکه ضریب خاموشی (Extinction coefficient) پارانیترو فنل مقدار $۱۰^{۳}$ * ۱۸/۸ لیتر بر مول است محاسبه شد.

آنالیز آماری: داده های به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) در نظر گرفته شد. برای تعیین اختلاف معنی دار نتایج از آنالیز واریانس One Way ANOVA و تست مکمل Tukey **استفاده شد و مقدار P کمتر از ۵ درصد ($p< 0.05$) معنی دار مشخص شد.**

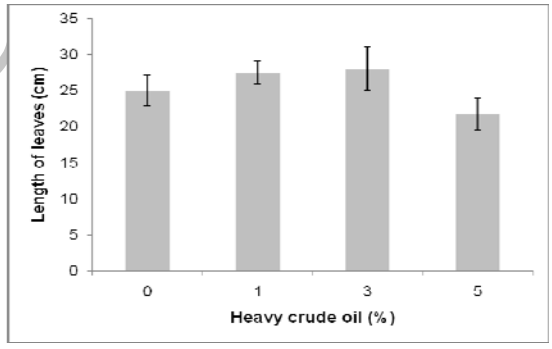
Archive of SID
www.SID.ir

نتایج

شمارش تعداد جوانه ها در گیاه: شمارش تعداد جوانه ها در نمونه ها نشان داد که حضور نفت خام در گیاه تأثیری در جوانه زدن گیاه نداشته است به طوری که حتی در نمونه ۵ درصد هیچ گونه تفاوت معنی داری با نمونه کنترل دیده نشد (شکل ۱). با این حال حضور نفت سبب تأخیر در جوانه زدن شد.



شکل۱ – شمارش تعداد جوانه ها در خاک . هیچگونه اختلاف معنی داری بین نمونه های آلوده و شاهد دیده نشد.



شکل۲– اندازه گیری طول اندام هوایی در گیاه. در نمونه ۵ درصد کوتاه ترین اندام هوایی دیده شد.

بررسی اندازه و طول اندام هوایی گیاه نشان داد که در نمونه ۵ درصد از طول اندام هوایی کاسته شده ولی تفاوت معنی داری بین کنترل و نمونه های آلوده به نفت مشاهده نشد. به غیر از نمونه ۵ درصد، حضور آلودگی تأثیری بر رشد و طول اندام هوایی گیاه نداشت (شکل۲).

اندازه گیری زیست توده گیاه: بررسی مقدار زیست توده کل(ریشه و ساقه) نشان داد که هر چه غلظت نفت در نمونه بیشتر باشد از مقدار زیست توده کل کاسته می شود. بیشترین مقدار زیست توده در نمونه شاهد (فاقد نفت) و کمترین آن در نمونه ۵ درصد مشاهده شد (شکل۳). اختلاف معنی داری بین نمونه کنترل و ۵ درصد دیده شد. نفت نه تنها بر روی ساقه و اندام هوایی بلکه بر روی میزان رشد ریشه نیز مؤثر بود. اندازه گیری مقدار زیست توده ریشه در نمونه ها نشان داد که کمترین مقدار زیست توده گیاه در نمونه ۵ درصد و بیشترین آن در نمونه کنترل مشاهده شد(شکل۳). مشاهده ماکروسکوپی ریشه نشان داد هر چه بر غلظت نفت در خاک افزوده شود از پراکندگی ریشه در خاک کاسته شده و مقدار انشعابات ریشه نیز کم می شود. حضور نفت در خاک سبب تأخیر در جوانه زنی و تأثیر بر روی رشد گیاه شد. به طوری که هر چه بر مقدار نفت در خاک افزوده شد از طول ساقه گیاه کاسته شد. همچنین حضور نفت باعث زردی زودرس برگهای گیاه شد.

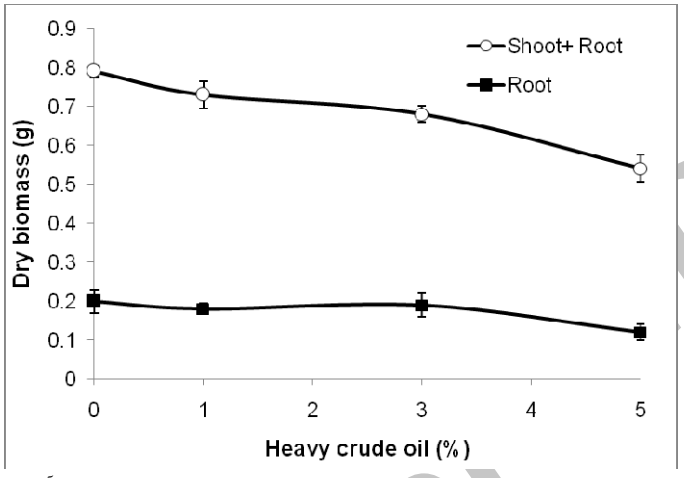
بررسی فعالیت آلکالن فسفاتاز در ریشه: با توجه به تغییرات ماکروسکوپی که در نمونه ۵ درصد نسب به شاهد مشاهده شد، برای مطالعه تغییرات آنزیمی از نمونه های ریشه و ساقه در خاک آلوده به نفت با غلظت ۵ درصد استفاده و با شاهد (خاک بدون نفت) مقایسه شد. بررسی فعالیت آلکالن فسفاتاز ریشه گیاه در حالت آلوده و شاهد نشان داد که هر دو فاکتور Km و Vmax آنزیم در نمونه آلوده نسبت به شاهد تفاوت کرده است به طوری که هم Km و هم Vmax افزایش را نشان داد (شکل ۴).

بررسی فعالیت آلکالن فسفاتاز در اندام هوایی : مقایسه فعالیت آنزیم آلکالن فسفاتاز در ساقه گیاه آلوده و شاهد نشان داد که فاکتور Km در نمونه آلوده افزایش یافته و Vmax نیز افزایش نشان داده است. مقایسه Km نمونه آلوده و شاهد اختلاف معنی داری بین آنها نشان نداد (شکل۵).

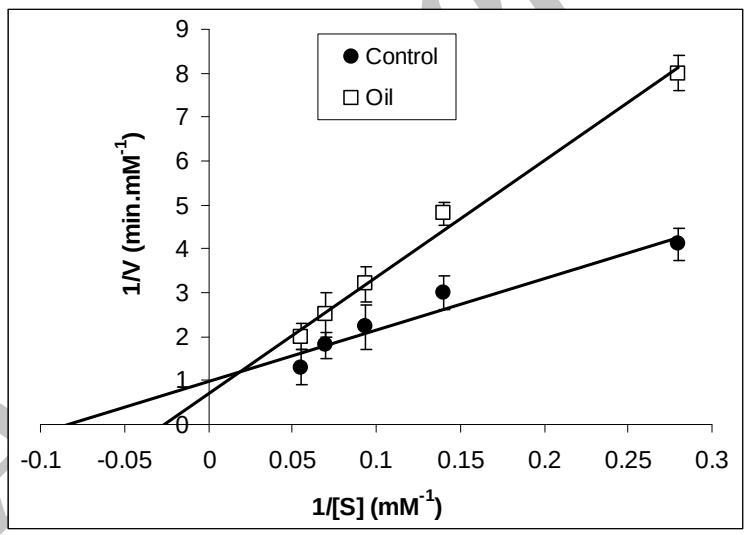
مقایسه فعالیت ویژه آنزیم در ریشه و ساقه: محاسبه فعالت ویژه آنزیم آلکالن فسفاتاز در ریشه گیاه شاهد و

Archive of SID
www.SID.ir

آلوده نشان داد که فعالت ویژه در ریشه گیاه شاهد در حدود U/mg protein ۲ ± ۱۰ و در نمونه آلوده در حدود U/mg protein ۲ / ۱±۵/۹ بوده ا ست در حالی که در ساقه گیاه فعالیت ویژه برای شاهد در حدود U/mg protein ۰/۹ ± ۴/۶۵ و برای نمونه آلوده در حدود U/mg protein ۸ / ۰±۴/۲۵ محاسبه گشت. اختلاف معنی داری بین فعالیت ویژه آنزیم در ریشه گیاه شاهد و آلوده مشاهده می شود که این اختلاف در اندام هوایی گیاه به چشم نمی خورد.



شکل ۳- مقایسه مقدار زیست توده کل(ریشه وساقه) و زیست توده ریشه در نمونه های آلوده و شاهد



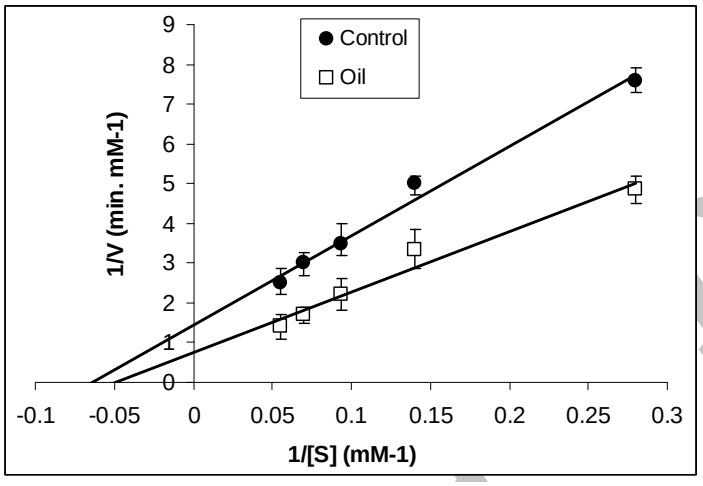
شکل ۴- رسم منحنی لینوویر و بورک ومحاسبه تغییرات سرعت ماکزیمم و Km در آنزیم آلکالن فسفاتاز نمونه ریشه شاهد و آلوده. اختلاف معنی داری بین مقدار Km نمونه شاهد و کنترل دیده شده در حالی که اختلاف معنی داری بین سرعت ماکزیمم نمونه شاهد و کنترل دیده نشد.

بحث

آلودگی خاک می تواند تأثیرات مهمی بر فیزیولوژی سلولهای گیاهی اعمال کند که نتیجه آن تغییر مرفولوژی و ماکروسکوپی در گیاه است(۱۷). نفت خام یکی از مهم ترین آلوده کننده های خاک در کشور محسوب می شود که از طریق نشت نفت به هنگام انتقال، استخراج و پالایش به خاک نفوذ کرده و توسط آبهای زیرزمینی و یا سطحی به زمینهای کشاورزی منتقل شده و بر روی گیاهان تأثیر می گذارد. معمولاً ریشه گیاه که در مجاورت خاک قرار دارد جذب آلودگی را انجام داده و بیشتر تحت تأثیر آلودگی قرار می گیرد و ساقه گیاه این تغییرات را با شدت

www.SID.ir

کمتری نشان می دهد (۱، ۲، ۱۳، ۱۶). یکی از مهم ترین تأثیرات آلودگی بر روی آنزیمهای گیاهی می باشد. از آنزیمهای مهمی که در شرایط استرس فعالیت متفاوتی را از خود نشان می دهد شامل پراکسیدازها، کاتالاز و آلکالن فسفاتاز است. گزارشهای زیادی در مورد تغییر فعالیت آنزیمهای پراکسیداز تحت شرایط استرس ارائه شده است (۹) آلودگی خاک توسط فلزات سنگین می تواند برروی فعالیت آنزیمهای خاک مؤثر باشد (۱۴).



شکل۵- رسم منحنی لینوویر و بورک برای محاسبه سرعت ماکزیمم و Km در ساقه گیاه عدس. هیچگونه اختلاف معنی داری بین نمونه شاهد و آلوده برای دو فاکتور Km و سرعت ماکزیمم دیده نشد.

در این مطالعه تأثیر آلودگی نفتی خاک بر روی فعالیت آنزیم آلکالن فسفاتاز مورد مطالعه قرار گرفت. آلوده سازی خاک به نفت خام نشان داد که غلظت ۵ درصد نفت خام در خاک بیشترین تأثیر بر روی جوانه زنی و رشد گیاه می گذارد. مطالعات زیادی بر روی تأثیر نفت بر رشد و جوانه زنی گیاه انجام شده است. بعضی از مطالعات نشان داده است که گیاهانی از نوع گرامینه اند غلظتهای بالاتر از ۱۰ درصد نفت خام را نیز در خاک تحمل نموده و رشد کنند با آنکه رشد آنها بسیار کند و بیمار گونه است (۱۲). ولی تاکنون هیچگونه گزارشی از تأثیر نفت خام بر روی گیاه عدس اعلام نشده است. به این دلیل در این مطالعه غلظتهای مختلف نفت به خاک اضافه شد تا بهترین غلظتی که می توانست تأثیر مرفولوژیک بر روی گیاه اعمال کند، مشاهده شود. مقایسه تأثیر غلظتهای ۱، ۳ و ۵ درصد نفت نشان داد که که غلظت ۵ درصد مناسب ترین غلظتی که می توان برای کارهای آنزیمولوژی انتخاب نمود. زیرا در این غلظت مقدار جوانه زنی، مقدار زیست توده، طول برگها و مقدار ریشه گیاه به خوبی تحت تأثیر آلاینده قرار گرفته و تغییر در گیاه مشاهده می شود. مطالعات گذشته که بر روی فسکیو و یونجه انجام شده است نیز نشان داد که غلظت ۵ درصد نفت تأثیر بر روی رشد گیاهان داشته است (۱۱و ۱۵).

بررسی تغییرات آنزیم آلکالن فسفاتاز در ریشه و ساقه گیاه نشان داد که فعالیت آنزیم در ریشه گیاه شاهد و ریشه گیاه آلوده با یکدیگر تفاوت مشهود داشته و کینتیک آنزیمی نشان داد که هر دو فاکتور Km و Vmax در نمونه آلوده با شاهد اختلاف معنی داری را نشان می دهد. در برخی از مطالعات تأثیر خاک آلوده به روغن موتور بر آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز اندام هوایی تغییر در Km و Vmax آنزیمها را نسبت به کنترل نشان داد(۳).

در این تحقیق مطالعه فعالیت آنزیم در ساقه گیاه، تفاوت معنی داری را بین نمونه شاهد و نمونه آلوده نشان نداد و همچنین بررسی دو فاکتور کینتیکی Km و Vmax نیز تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان نداد. از نتایج فوق می توان این طور پیشنهاد نمود که چون ریشه گیاه در ارتباط

Archive of SID
www.SID.ir

مستقیم با آلودگی در خاک است، تغییرات بیشتری را از لحاظ مورفولوژی و آنزیمی نسبت به ساقه متحمل شده است. و همچنین می توان با مقایسه فعالیت آنزیم در ریشه شاهد وکنترل پیشنهاد نمود که یک ایزوآنزیم آلکالن فسفاتاز در نمونه آلوده نسبت به شاهد در گیاه بیان شده است که فاکتور های کینتیکی آن با نمونه شاهد نیز تفاوت دارد.

منابع

۱- سلطانی فریبا، قربانلی مه لقا، منوچهری کلانتری خسرو. ۱۳۸۵. اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی ، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا(*Brassica napus L.*). *مجله زیست شناسی ایران* جلد ۱۹، ۱۳۶-۱۴۵.

۲- مینویی سعید، مینایی تهرانی داریوش، سمیعی کیواندخت ، فریور شیرین.۱۳۸۷، مطالعه تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی تأثیر فلز کادمیوم بر گیاه گندمی *(Chlorophytum comosum)* *مجله زیست شناسی ایران* جلد ۲۱، ۷۳۷-۷۴۷.

3- Achuba FI. 2010. Spent engine oil mediated oxidative stress in cowpea (*Vigna unguiculata*) seedling. Elect. *J. Environ. Agr. Food.Chem* 9, 910-917.

4- Aprill W, Sims RC. 1990. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*. 20: 253-265.

5- Banks MK, Kulakow P, Schwab AP, Chen Z, Rathbone K. 2003. Degradation of Crude Oil in the Rhizosphere of *Sorghum bicolor*. *Int.J.Phytoremediation*. 5: 225-234.

6- Brandt R, Merkl N, Schultze-Kraft R, Infante C, Broll G. 2006. Potetial of Vetiver (Vetiveria zizanoides (L.) Nash) for petroleum hydrocarbon-contaminated soils in Venezuela. *Int.J.Phytoremediation*. 8: 273-284.

7- Gudin C, Syratt WJ. 1975. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. *Environ. Pollut*. 8: 107-112.

8- Gunther T, Dornberger U, Fritsche W. 1996. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*. 33, 203-215.

9- Hegedus A, Erdei S, HorvathG. 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Sci*. 160, 1085-1093.

10- Merkl N, Schultze-Kraft R, Infante C. 2004. Phytoremediation in the tropics – The effect of crude oil on the growth of tropical plants. *Bioremediation. J*. 8, 177–184.

11- Minai-Tehrani D, Shahriari MH, Savaghebi-Firoozabadi G, Kalantari F, Azizi M. 2007. Effect of light crude oil-contaminated soil on growth and germination of *Festuca arundinacea*. *J.Appl.Sci* 7, 2623-2628

12- Minai-Tehrani D. 2008. Effect of heavy crude oil-contaminated soil on germination and growth of

Poa trivialis (Rough meadow-grass). *Arch. Agr. Soil. Sci*. 54, 83-92.

13- Reilley KA, Banks MK, Schwab AP. 1996. Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J.Environ.Qual*. 25: 212-219.

14- Sengar RS, Gautam M, Sengar RS, Garg SK, Sengar K, Chaudhary R. 2008. Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Rev. Environ. Contam. Toxicol*. 196:73-93.

15- Shahriari MH, Savaghebi-Firoozabadi G, Azizi M, Kalantari F, Minai-Tehrani, D. 2007. Study of growth and germination of *Medicago sativa* (Alfalfa) in light crude oil-contaminated soil. *Res.J.Agr.Biol.Sci*. 3, 46-51.

16- Wiltse CC, Rooney WL, Chen Z, Schwab AP, Banks MK. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *J. Environ. Qual*. 27: 169-173.

17- Zhang CG, Leung KK, Wong YS, Tam NFY. 2007. Germination, growth and physiological responses of mangrove plant (*Bruguiera gymnorrhiza*) to lubricating oil pollution. *Environ. Exp. Bot*. 60, 127-136.

Archive of SID
www.SID.ir

Effect of crude oil contaminated soil on the activity of alkaline phosphatase in *lens culinaris*

Minoui S.[1], Minai-Tehrani D.[2], Jamshidi M.[2], Yusefi Z.[2], Talebi M.[2], Kavand B.[1], Ghaffari Z.[2] and Shademan S.[2]

[1] **Research Institute of Environmental Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of Iran**

[2] **Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of Iran**

Abstract

The oil spillage has always been a source of contamination in the soil affecting the environment, the plant and animal life. The source of the contamination is usually due to faulty extraction of the oil from the earth, refining, processing and finally the transportation. The spillage of the crude oil can penetrate through the soil and get to the underground water and the farming lands and by doing so, damage the animals grass land and humans farming products. Lentil is a widely used crop in human's diet and so it makes it important to be investigated. In this study, the effect of the contaminated soil on the growth and germination of the lentil and the activity of alkaline phosphatase has been investigated. The results showed that the 5% concentration of oil in the soil delayed and decreased the number of germination and the biomass of the shoots and the roots, also decreasing the normal size of the leaves .Therefore 5% concentration of crude oil in the soil showed it is a suitable dose to study the effect of contamination on the enzyme. The results showed that the activity of the enzyme in the roots of the control was significantly different compared with that of the contaminated ones. Measurement of the enzyme kinetics for the determination of the Vmax and Km also showed a significant difference, suggesting that there may be an alkaline phasphatase isozyme presence in the roots, which is responsible for this difference observed between the contaminated and the control samples.

Keywords: Enzyme, Plant, Contamination, Crude oil

Archive of SID

www.SID.ir