مجله مهندسی بهداشت محیط، پاییز ۱۴۰۲، سال ۱۱، شماره ۱ : ۱۱۶-۱۲۹

ارزیابی پاسخ گونه‌های درختی به آلودگی هوا با استفاده از زیست نشانگرهای بیوفیزیکی و بیوشیمیایی برگ

مسعود حاتمی‌منش[۱*]، ثمرمرتضوی[۲]، عیسی سلگی[۳]، احمد مهتدی[۴]

[۱] گروه برنامه ریزی و مدیریت زیست بومی تالابها، سازمان حفاظت محیط زیست
[۲] گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، همدان، ایران
[۳] گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، همدان، ایران
[۴] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: باتوجه به نقش پو شش‌های گیاهی در کاهش و جذب آلاینده‌های هوا ارزیابی مقاومت گونه‌های مختلف نسبت به آلاینده‌های محیطی به منظور انتخاب گونه‌های مناسب از اهمیت بسیار بالایی برخوردار می‌باشد. از اینرو هدف مطالعه حاضر ارزیابی مقاومت گونه‌های چنار *P. orientalis*، شاه‌توت *M. nigra* و عرعر *A. altissima* نسبت به آلودگی هوا با استفاده از زیست نشانگرهای بیوفیزیکی و بیوشیمیایی برگ می‌باشد.

مواد و روش ها: بدین منظور نمونه‌برداری از برگهای سه گونه درختی از شش ایستگاه در شهر اصفهان صورت گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه تراکم روزنه‌ها، میزان پروتئین کل، قندهای محلول و آنتوسیانین برگ آنها اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج نشان داد گونه‌های شاه‌توت وعرعر با افزایش، و گونه چنار با کاهش تراکم روزنه های خود نسبت به آلودگی هوا پاسخ نشان داده‌اند. میزان پروتئین کل برگ شاه‌توت، چنار و عرعر به میزان ۴۸/۹۳، ۵۵/۷۶ و ۲۳/۵۳ درصد در مناطق آلوده نسبت به مناطق پاک بیشتر بوده است. این میزان برای قندهای محلول و آنتوسانین در شاه‌توت، چنار و عرعر به ترتیب برابر(۹۰/۲۲، ۳۸/۶۵ و ۸۸/۸۸) و برابر (۱۹/۶۴، ۸۸/۸ و ۸۰/۰۵) درصد بوده است.

نتیجه گیری: براساس یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت درختان در ارتباط با تراکم روزنه‌ها پاسخ نسبتا متفاوتی نسبت به آلودگی هوا می‌دهند که این امر می‌تواند به دو طریق افزایش یا کاهش تراکم روزنه‌ها باشد. افزایش مقدار پروتئین کل، قندهای محلول و آنتو سیانین موجود در برگ درختان منطقه آلوده بیانگر این موضوع است که این درختان نسبت به مقدار آلودگی آلاینده‌های مقاوم هستند و از این استراتژیها جهت سازگاری و مقابله با آلاینده‌ها استفاده می‌کنند.

واژه های کلیدی: آلودگی هوا، زیست نشانگرهای برگ، تراکم روزنه، آنتوسیانین، فلزات سنگین

* گروه برنامه ریزی و مدیریت زیست بومی تالابها، سازمان حفاظت محیط زیست
نویسنده مسئول: **Masoud_hatami68@yahoo.com**، شماره تماس: ۰۹۱۷۷۴۳۳۵۵۹

مقدمه

توسعه بسیار سریع و مدرن جوامع انسانی پیامدهای و تهدیدات فراوانی نظیر ورود انواع آلاینده‌های سمی به اتمسفر را به همراه داشته است [۱]. اثرات آلودگی هوا بر موجودات زنده بخصوص بر جوامع بشری از مدت زمان‌های خیلی طولانی به اثبات رسیده است. به گونه‌ای که تایید شده قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های مختلف هوا منجر به ایجاد بیماری‌های مزمن ریوی، برونشیت، تولید موکوس، آسم، افزایش تشکیل مالون دی آلدئید خون و کاهش میزان ویتامین‌های C و E، افزایش ریسک سرطان ریه، کم خوبی، هیپوکسی(Hypoxia)، بیماری قلبی- عروقی ، اختلال در عملکرد کلیه‌ها ، مرگ و میر و غیره می‌شود [۲-۴]. از سوی دیگر با وجود سابقه طولانی شناسایی آلاینده‌های هوا، منابع تولید کننده و عوامل موثر بر تولید آن، توزیع و پراکنش آنها، اما به دنبال رشد سریع جمعیت، توسعه شهرنشینی، فعالیت‌های گسترده صنعتی و حمل و نقل بر شدت آنها افزوده شده است [۵]. از این‌رو آلودگی هوا هنوز هم یک مشکل جدی و نو در سراسر جهان محسوب می‌گردد [۶]. بنابراین با توجه به تهدیدات آلودگی هوا برای جوامع بشری ارزیابی و ارایه راهکارهای مناسب به منظور کاهش یا حذف این آلاینده‌ها بسیار ضروری است.

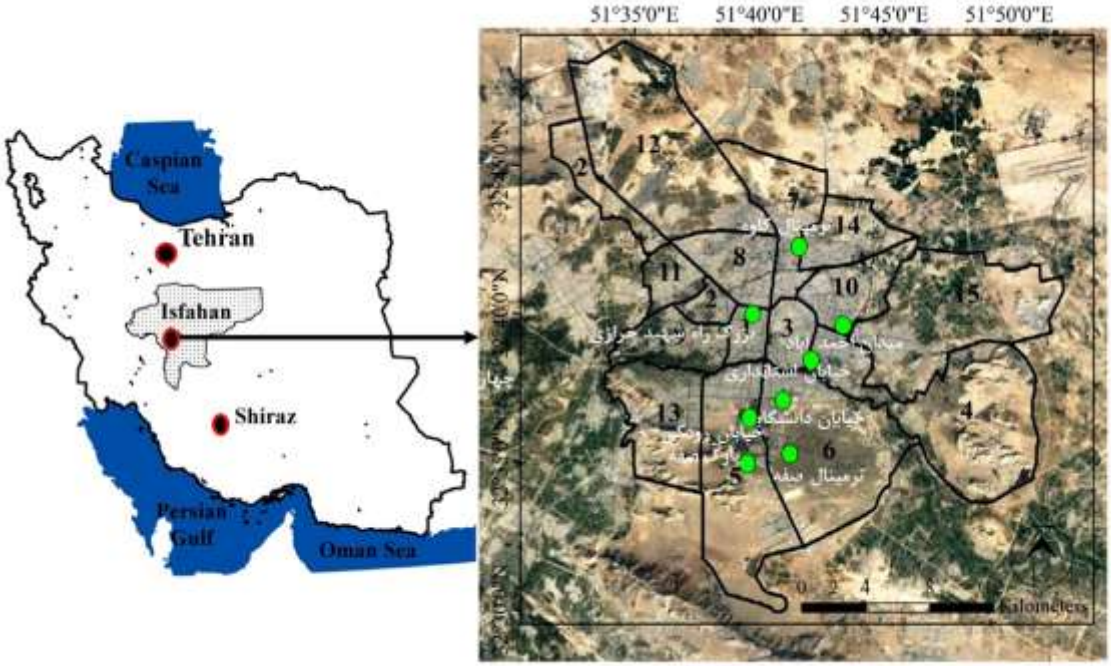
به دنبال اثرات و پیامدهای منفی ناشی از آلاینده های محیطی همواره محققان با روش‌های گوناگونی اعم از فیزیکی، شیمیایی و زیستی و حتی با قانون‌گذاری و فرهنگ‌سازی در جامعه سعی در کاهش و جلوگیری از تولید آلاینده‌های مختلف داشته‌اند [۷]. اما متاسفانه شواهد حاکی از بوده که این روش‌ها به دلایل مختلف نظیر گستردگی حجم آلودگی، غیر نقطه‌ای بودن منبع تولید و مسایل مرتبط با روش‌ها و تجهیزات کنترل آلودگی هوا این تلاش‌ها چندان موثر نبوده و لذا بایستی راهکارهای جدید و مناسب‌تری را اتخاذ نمود. [۸] در این راستا یکی از روش‌های که به نظر می‌رسد نقش مهمی در کاهش آلاینده‌های هوا داشته باشد تکنولوژی گیاه‌پالایی است. چرا که پوشش‌های گیاهی می‌تواند به واسطه قدرت جذب و تجمع آلاینده‌ها آلی، معدنی و گازی توسط اندام‌های مختلف خود اعم از برگ، ریشه و پوست به عنوان یک فیلتر بیولوژیکی جهت پایش، جذب، خنثی‌سازی و حذف آلاینده‌های هوا بکار گرفته شود [۹]. اما با این وجود یافته‌ها حاکی از آن است در پاره‌ای از مواقع آلاینده-های هوا بخصوص گازهای موجود در هوا موجب آسیب به درختان، کاهش رشد یا مرگ آنها می‌شود.

گیاهان در مواجهه با آلاینده‌های محیطی به منظور کاهش اثرات آنها و جلوگیری از ورود آنها به اندام‌های خود و همچنین سمیت زدایی آنها شبکه پیچیده‌ای از استراتژی‌های دفاعی را بکار می‌برند [۱۰]. اولین مکانسیم دفاعی گیاهان در مقابل آلاینده-های موانع بیوفیزیکی گیاه نظیر استفاده از برخی ساختارهای موفولوژیکی برگ مانند ضخیم شدن کوتیکول، افزایش کرکهای روی برگ، افزایش تعداد روزنه‌ها و غیره می‌باشند. زمانی آلاینده‌های از موانع بیوفیزیکی برگ درختان عبور نموده و در نتیجه وارد سلول‌ها و بافت‌های گیاه شوند [۱۱]. گیاه به منظور کاهش یا حذف اثرات نامطلوب آنها مکانیسم دفاعی سلولی و بیوشیمایی مختلفی نظیر تولید، افزایش یا کاهش مولکول‌های زیستی نظیر فیتوچلاتین، متالوتیونین‌ها پروتئین‌های شوک حرارتی، ترکیبانی چون آنتوسیانین، پرولین و غیره را فعال می-نمایند [۱۲]. اما زمانی که استراتژی‌های فوق قادر به کاهش، حذف و محدود کردن سمیت آلاینده‌ها در گیاه نباشند تعادل سیستم-های احیای سلولی در گیاهان به هم ریخته و منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن ROS ، نظیر رادیکال سوپراکسید و پراکسیداز در گیاه می شود که این امر موجب ایجاد رادیکال-های آزاد درون گیاه شده و این وقایع خود منجر به آسیب‌های غیرقابل جبران متابولیک و حتی مرگ سلول‌ها می‌شوند [۱۰،۱۳]. بنابراین گیاهان به منظور حفاظت و مقابله با آلاینده‌ها هوا و استرس‌های اکسیداتیو ناشی از آنها مکانسیم‌های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی مختلف را بکار می‌گیرند که سنجش آنها نقش

مهمی در ارزیابی مقاومت گونه‌های درختی به آلاینده‌ها دارند [۱۴،۱۵]. در این راستا محققان مختلفی از جمله طاهری و همکاران(۱۳۹۹) به مقایسه پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه افرا پلت (*A. velutinum*) تحت تاثیر آلاینده‌های هوا؛ Uka و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی به بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گونه های درختی (*F. platyphylla*، *M. indica*، *P. longifolia* و *T. catappa*) در خیابان‌ها؛ El-Khatib و همکاران(۲۰۲۰) به مطالعه‌ی پاسخ بیوشیمایی گونه‌های درختی در حضور مقادیر مختلف فلزات سنگین هوا پرداختند [۸، ۱۶، ۱۷]. بنابراین باتوجه به اهمیت و اثرات مخرب آلودگی هوا و همچنین نقش پوشش‌های گیاهی در خنثی‌سازی این امر انجام مطالعات علمی دقیق در خصوص توانایی جذب و ارزیابی مقاومت گونه‌های مختلف نسبت به آلاینده‌های محیطی به منظور انتخاب گونه‌های مناسب از اهمیت بسیار بالایی برخوردار می‌باشد. به همین جهت در پژوهش حاضر به ارزیابی مقاومت گونه‌های درختی به آلودگی هوا در نواحی شهری می‌پردازد. زیرا؛ اگرچه کاشت گیاهان و درختان می توانند به عنوان یک عامل مهم و اساسی در کاهش آلودگی هوا در سایت‌های مختلف شهری بکار گرفته شوند. اما باتوجه به اینکه فضای باز و کافی جهت کاشت درختان در محیط‌های شهر کم و محدودیت می باشد. بنابراین اگر قرار باشد از گونه-های درختی به عنوان گزینه مناسب جهت کاهش آلاینده های محیطی استفاده گردد، پس باید گونه‌های درختی مقاوم با حداکثر پتاسیل جذب و کاهش آلودگی هوا استفاده گردند.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه ؛ در پژوهش حاضر منطقه مطالعاتی شهر اصفهان می‌باشد جهت تعیین ایستگاه‌های نمونه‌برداری پنج منطقه آلوده در شهر اصفهان شامل؛ میدان احمد آباد، خیابان دانشگاه، خیابان استانداری، بزرگراه خرازی و ترمینال کاوه، انتخاب شدند. نحوه انتخاب ایستگاه‌ها به گونه‌ای بود تا ضمن اینکه ایستگاه‌ها آلوده، شلوغ و با تراکم جمعیت بالا انتخاب شود، ایستگاه‌های باشند که شرایط نسبتا مشابهی از نظر دوره آبیاری، شرایط محیطی و اقلیمی و غیره داشته باشند. همچنین قابل ذکر است پارک کوه صفحه(پارک وحش صفه) به عنوان ایستگاه شاهد(منطقه پاک) انتخاب گردید.



شکل ۱: موقعیت مکانی منطقه مطالعاتی و ایستگاه‌های نمونه‌برداری

نمونه‌برداری، آماده‌سازی و هضم نمونه‌ها؛ به منظور بررسی حساسیت گونه‌های درختی نسبت به آلودگی هوا سه گونه چنار (*Platanus orientalis*)، شاه‌توت (*Morus nigra*)، و عرعر (*Ailanthus altissima*) انتخاب و از برگ آنها در نواحی و محدوده‌های اطراف ایستگاه‌های مطالعاتی (شش ایستگاه) نمونه‌برداری شد. در این پژوهش سعی گردید از برداشت برگهای آفت زده و ناسالم خودداری شود (در حد امکان از برگ‌های سالم و بالغ نمونه برداشت شد). گونه‌ها در هر ایستگاه به صورت تصادفی انتخاب و نمونه‌ها از برگ آنها از ارتفاع ۱/۵ تا ۲/۵ متر از سطح زمین به تعداد ۳۰ – ۴۰ برگ از هر درخت برداشت گردید(ذکر این نکته لازم است برگ‌ها از چهار جهت اصلی درختان(شمال، جنوب، مشرق و مغرب) برداشت شدند. پس از جمع‌آوری برگ درختان موجود در سطح شهر، نمونه‌ها را در بسته‌های کاغذی به آزمایشگاه انتقال و در اسرع وقت جهت تعیین پاسخ‌های برگی آنها اقدام شد.

سنجش تراکم روزنه؛ به منظور تعیین تراکم روزنه‌های برگ اپیدرم‌های هر دو سطح برگ (فوقانی و تحتانی) به صورت دستی تهیه و روی لام قرار گرفته و به مدت ۱ دقیقه با سافرانین ۱۰ درصد رنگ آمیزی شدند، در گام بعدی یک قطره گلیسیرین ۱۰ درصد برروی آنها ریخته و سپس اسلاید تهیه شده جهت تعیین تراکم روزنه‌ها اپیدرم‌ها در زیر میکروسکوب گذاشته شدند. درنهایت تراکم روزنه‌ها در هر دو سطح اپیدرم برگ برای نمونه‌های مناطق آلوده و پاک شمارش شدند[۱۸].

اندازه‌گیری پروتئین کل؛ جهت اندازه‌گیری پروتین کل از روش برادفورد(۱۹۷۶) استفاده شد. توضیح اینکه ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه برگ تر در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر گردید و سپس با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج هموژن شدند. مخلوط حاصل درون لوله پلاستیکی در داخل یخ قرار داده و سپس نمونه های به مدت ۲۱ دقیقه سانتریفیوژ (با سرعت ۱۱۵۰۰ دو در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) شدند، در مرحله بعد

بخش شفاف محلول برداشته شد و مجددا به مدت ۲۰ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. و در این گام از بخش شفاف هر لوله ۷۰۰ میکرولیتر برداشته و در داخل لوله پلاستیکی قرار ریخته و در نهایت جهت تعیین میزان کمی پروتیئن کل از روش برادفورد استفاده شد.

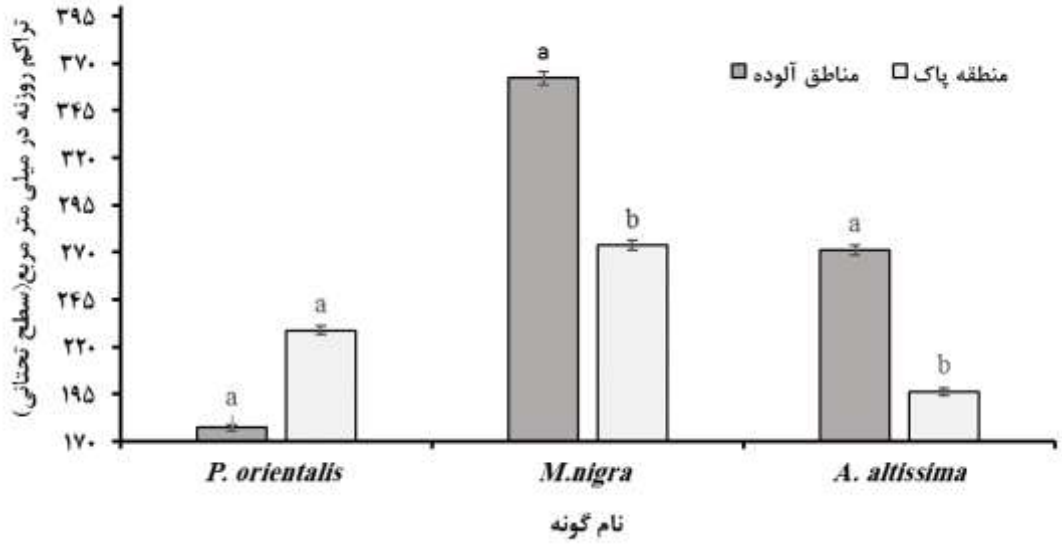
قندهای محلول ؛ جهت سنجش قندهای محلول از روش فنل–اسید سولفوریک استفاده شد، توضیح اینکه در ابتدا برگها را به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد قرار داده و پس از خشک شدن میزان ۰/۱ گرم از نمونه‌های برگ خشک شده را با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن کرده و به هر یک از نمونه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر الکل ۸۰٪ افزوده می‌شود و مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده و فاز مایع آن را جدا کرده و سپس به مدت یک ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون به منظور تبخیر شدن اتانول قرار داده شد. و در گام بعدی ۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل را به لوله آزمایش منتقل و ۱ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد فنل به آن اضافه نموده و نمونه‌ها را به شدت تکان داده تا محلول کف کند. سپس ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد به هر نمونه اضافه شد. بعد از ۴۵ دقیقه و تثبیت رنگ نارنجی مایل به زرد، شدت جذب نور در طول موج ۴۸۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد و غلظت قندهای محلول در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد با غلظت ۰ تا ۳۵ بر حسب میلی‌گرم در لیتر تعیین و سپس برحسب گرم وزن خشک بافت گیاهی محاسبه شد [۱۹، ۲۰].

اندازه گیری آنتوسیانین؛ برای اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش Fulcki و Francis (۱۹۶۸) استفاده شد. در این روش ابتدا ۱ گرم از برگ تر را وزن کرده و در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل ۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) ساییده، و سپس عصاره‌ی حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفیوز شد و فاز بالای آن به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای محیط (دمای آزمایشگاه) نگهداری شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی ($m^{M-1} cm^{-1}$ ۱۵۰) استفاده خواهد شد.

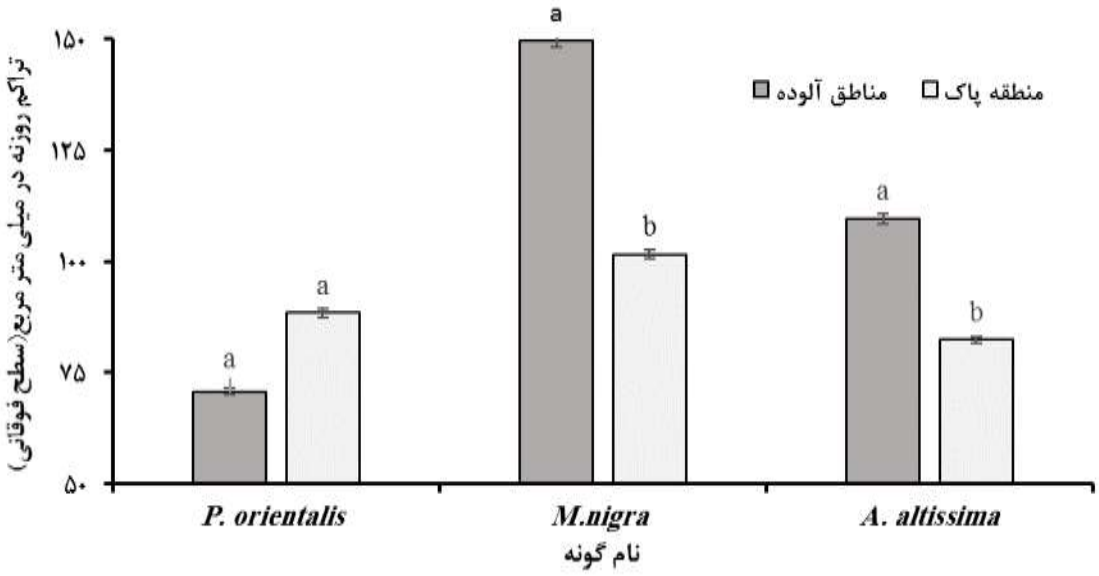
نتایج

یافته‌های آ نالیز ارزیابی اثر آلودگی هوا بر تراکم روزنه‌های برگ نشان داد میانگین تراکم روزنه سطح تحتانی منطقه آلوده و پاک برای چنار *P.orientalis*، شاه‌توت *M.nigra*، و عرعر *A.altissima* به ترتیب (۱۶/۹±۱۷۷/۶۲و ۹۰/۲۳±۲۲۸/۱۱)، (۱۰۰/۶۰±۳۶۳/۲ و ۹/۲۴±۲۷۳/۶۷) و (۱۰۴/۵۳±۲۷۱/۳۱ و ۶۵/۴±۱۹۶/۱۹) و برای سطح فوقانی برگ برابر (۲۰/۳۱±۷۰/۶۸ و ۲۶/۲۷±۸۸/۲۳)، (۴۰/۳۳±۱۴۹/۷ و ۵۶/۸۳±۹۸/۲۷) و (۲۰/۶۶±۱۰۹/۶۴ و ۴۲/۳±۸۶/۱۸) در هر میلی‌متر مربع محاسبه شد.

آنالیز داده براساس آزمون T-Test افزایش معنادار تراکم روزنه در هر دو سطح برگ شاه توت و عرعر در مناطقه آلوده در مقایسه با منطقه پاک را نشان داد، به گونه‌ای که مقدار این کاهش به ترتیب برای شاه‌توت برابر ۳۲/۷۱ و ۵۱/۸۸ و عرعر ۳۷/۹۶ و ۲۷/۲۲ درصد بوده است. یافته‌های آنالیز داده‌های اثر آلودگی هوا بر تراکم روزنه برگ چنار، تفاوت معناداری را در تراکم روزنه هر دو سطح برگ(تحتانی و فوقانی) نشان نداد(در سطح ۰/۰۵). اما مقایسه داده‌های تراکم روزنه دو سطح فوقانی و تحتانی برگ چنار منطقه آلوده و منطقه بیانگر بالابودن تراکم روزنه‌ها در مناطق پاک نسبت به آلوده بوده است(شکل ۲ و ۳).



شکل ۲: نتایج مقایسه تراکم روزنه سطح تحتانی برگ سه گونه درختی در مناطق آلوده و پاک



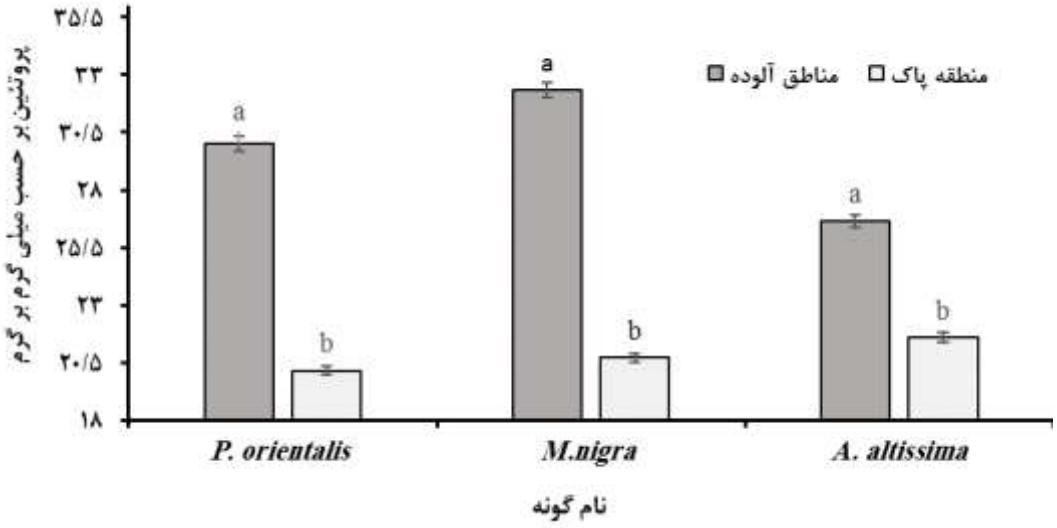
شکل ۳: نتایج مقایسه تراکم روزنه سطح فوقانی برگ سه گونه درختی در مناطق آلوده و پاک

نتایج آنالیز مقادیر غلظت پروتئین کل نشان داد بیشترین مقدار میانگین آن در برگ شاه‌توت *M. nigra* به میزان برابر ۳۰/۴۲±۷/۷۱mg/g، و سپس به ترتیب در چنار *P. orientalis* و عرعر *A. altissima* به میزان ۲۸/۰۴±۴/۴۵ و۲۶/۶۰±۵/۴ یافته شده است. همچنین یافته‌های سنجش پروتئین کل برگ در مناطق آلوده و پاک بیانگر این امر بود که میزان این شاخص در مناطق آلوده نسبت به منطقه پاک نیز بیشتر بوده است. مقدار پروتئین کل در منطقه آلوده نسبت به منطقه

پاک به ترتیب در شاه‌توت، چنار و عرعر ۴۸/۹۳، ۵۵/۷۶ و ۲۳/۵۳ درصد بوده است. آنالیز بررسی اثر آلودگی هوا میزان پروتئن کل برگ سه گونه درختی با استفاده از آزمون T-Test تغییر معناداری (سطح ۰/۰۵) را در برگ هر سه گونه نشان داد(شکل ۴).

جدول ۱: نتایج میزان غلظت پروتین کل در برگ سه گونه درختی در ایستگاه‌های مختلف (میلی‌گرم بر گرم پروتئین)

ایستگاه نمونه‌برداری		چنار (*P. orientalis*)	شاه توت (*M. nigra*)	عرعر (*A. altissima*)
مناطق آلوده	میدان احمدآباد	۲۹/۵۷	۴۰/۱۹	۲۹/۳۲
	بزرگراه شهید خرازی	۳۰/۶۱	۳۲/۹۹	۲۸/۰۳
	محدوده استانداردی	۲۴/۱۲	۲۸/۰۳	۱۹/۸۵
	پایانه کاوه	۳۵/۷۷	۳۵/۱۲	۳۴/۴۸
	دانشگاه	-	۲۹/۴۵	۲۰/۹۳
میانگین منطقه آلوده		۳۰/۰۱	۳۲/۳۵	۲۶/۶۶
میانگین منطقه پاک (پارک صفه)		۲۰/۱۵	۲۰/۷۲	۲۱/۵۷
میانگین کل (منطقه آلوده و پاک)		۲۸/۵±۰۴/۴۵	۳۰/۷±۴۲/۷۱	۲۶/۵±۰۰/۴



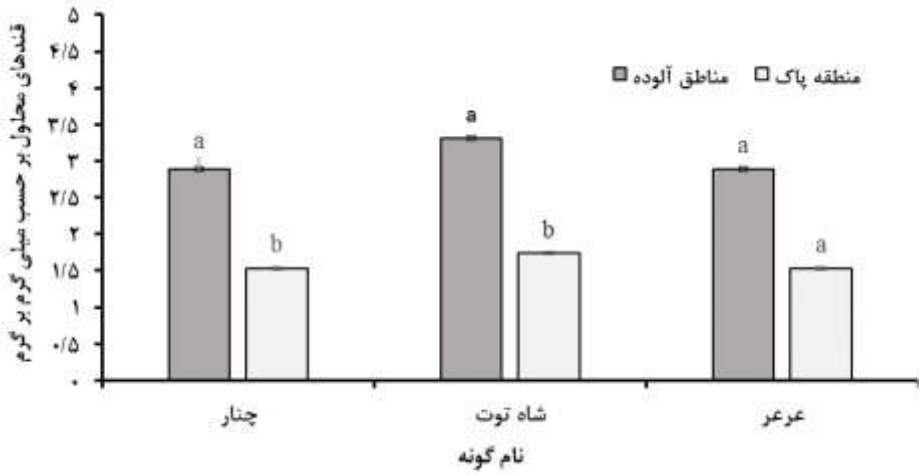
شکل ۴: نتایج مقایسه میزان پروتئین کل برگ در دو مناطق پاک و آلوده

یافته‌های آنالیز مقادیر غلظت قندهای محلول نشان داد بیشترین میانگین قندهای محلول در برگ چنار *P. orientalis* و به میزان mg/g ۳/۶۸±۰/۶۸ و بعد از آن به ترتیب در شاه-توت *M. nigra* و عرعر *A. altissima* به میزان برابر

۳/۰۵±۱/۱۶ و ۲/۲۴±۱/۰۴ mg/g وزن خشک برگ محاسبه شد. میزان غلظت قندهای محلول در منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک بیشتر بوده و این نسبت به ترتیب در شاه‌توت، چنار و عرعر برابر ۹۰/۲۲، ۳۸/۶۵ و ۸۸/۸۸ درصد بوده است(جدول ۲). آنالیز بررسی اثر آلودگی هوا میزان قندهای محلول تغییر معناداری (سطح ۰/۰۵) را در برگ شاه‌توت و چنار نشان داد(شکل ۵).

جدول ۲: نتایج میزان غلظت قندهای محلول در برگ سه گونه درختی در ایستگاه‌های مختلف(میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک برگ)

ایستگاه نمونه‌برداری		چنار (*P. orientalis*)	شاه توت (*M. nigra*)	عرعر (*A. altissima*)
مناطق آلوده	میدان احمدآباد	۴/۴۵	۴/۲۵	۲/۸۱
	بزرگراه شهید خرازی	۴/۰۲	۳/۹۰	۲/۰۱
	محدوده استانداردی	۳/۱۴	۱/۶۴	۱/۸۵
	پایانه کاوه	۴/۰۱	۳/۹۶	۴/۰۵
	دانشگاه	-	۲/۸۱	۱/۱۹
میانگین منطقه آلوده		**۳/۹۱**	**۳/۳۱**	**۲/۸۹**
میانگین منطقه پاک (پارک صفه)		۲/۸۲	۱/۷۴	۱/۵۳
میانگین کل (منطقه آلوده و پاک)		۳/۰±۶۸/۶۸	۳/۱±۰۵/۱۶	۲/۱±۲۴/۰۴



شکل ۵: نتایج مقایسه میزان غلظت قندهای محلول برگ در دو مناطق پاک و آلوده

نتایج آنالیز مقادیر غلظت آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم) برگ گونه‌های مطالعه شده نشان داد به ترتیب بیشترین مقادیر آنتوسیانین مربوط به چنار *P. orientalis* به میزان برابر ۰/۰±۶۵/۰۹ mg/g، و بعد از آن به ترتیب در برگ گونه عرعر *A. altissima* و شاه‌توت *M. nigra* به میزان برابر ۰/۶۱±۰/۲۰ و ۰/۰±۴۷/۱۹ mg/g بدست آمد. نتایج نشان داد

میانگین غلظت آنتوسیانین در مناطق آلوده بیشتر از مناطق پاک می‌باشد و این نسبت به ترتیب در شاه‌توت *M. nigra*، چنار *P. orientalis* و عرعر *A. altissima* برابر ۱۹/۶۴، ۸۸/۸ و ۸۰/۰۵ درصد بوده است (جدول ۳). آنالیز بررسی اثر آلودگی هوا میزان آنتوسیانین برگ تغییر معناداری (سطح ۰/۰۵) را در برگ سه گونه نشان نداد.

جدول ۳: نتایج میزان غلظت آنتوسیانین در برگ سه گونه درختی در ایستگاه‌های مختلف(میلی‌گرم بر گرم)

ایستگاه نمونه‌برداری		چنار (*P. orientalis*)	شاه توت (*M. nigra*)	عرعر (*A. altissima*)
مناطق آلوده	میدان احمدآباد	۰/۷۷	۰/۶۱	۰/۷۴
	بزرگراه شهید خرازی	۰/۵۹	۰/۶۹	۰/۸۹
	محدوده استانداردی	۰/۶۰	۰/۴۳	۰/۴۱
	پایانه کاوه	۰/۷۵	۰/۵۸	۰/۶۸
	دانشگاه	-	۰/۲۷	۰/۵۷
میانگین مناطق آلوده		**۰/۶۷**	**۰/۵۱**	**۰/۶۵**
میانگین منطقه پاک (پارک صفه)		۰/۵۶	۰/۲۷	۰/۳۶
میانگین کل (منطقه آلوده و پاک)		۰/۰±۶۵/۰۹	۰/۰±۴۷/۱۹	۰/۰±۶۱/۲۰

بحث

از شاخص مهم و موثر در ارزیابی مقاومت گونه‌های درختی به آلاینده‌های هوا تغییرات اندازه و تراکم روزنه‌ها است. از اینرو تغییرات در تراکم، پراکنش و مرفولوژی روزنه‌های سطح برگ به عنوان یک ویژگی متاثر از آلودگی در گیاهان و مکانسیم دفاعی مورد توجه محققان قرار می‌گیرد. در این مطالعه تراکم روزنه‌ها در دو گونه شاه‌توت (*M. nigra*)، و عرعر (*A. altissima*) در منطقه آلوده بیشتر از منطقه پاک بود است این نتایج با یافته‌های امینی و همکاران(۱۳۹۴) [۱۸]، خسروپور و همکاران(۱۳۹۷) [۲۱]، Rai و همکاران (۲۰۱۳) [۲۲]، رشیدی و همکاران(۱۳۹۹) [۲۳] همسو می‌باشد؛ علاوه بر این نتایج نشان داد تراکم روزنه‌های برگ گونه چنار در منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک نیز کمتر می‌باشد که این امر با یافته‌های پروخباز و همکاران(۲۰۱۰) [۲۴]؛ خسرو پور و همکاران(۱۳۹۷) همسو است. به طور کلی در توضیح رفتار متفاوت گونه‌ها نسبت به تراکم روزنه‌ها در مناطق آلوده و پاک می‌توان بیان کرد درختان در واکنش به آلودگی هوا می‌تواند به دو طریق یا با افزایش تعداد روزنه و کاهش اندازه آنها و یا بوسیله کاهش تراکم روزنه‌ها اثر آلودگی هوا را کاهش دهند و در نتیجه به یک سازگاری مناسب جهت ورود آلاینده‌ها و کنترل تبادلات گازی از طریق دست یابند. محققانی نظیر Larcher (۲۰۰۳) گزارش نمودند کاهش تعداد و تراکم روزنه مکانیسمی دفاعی مناسب گیاه جهت مقابله با اثرات منفی ناشی از آلودگی هوا است [۲۵]. بنابراین می‌توان بیان کرد تغییرات تراکم و اندازه روزنه‌ها به عنوان یک مکانسیم دفاعی گیاه واکنش به تنش‌های محیطی و یک رفتار مهم برای کنترل ورود و جذب آلاینده‌ها در گیاهان

است [۲۱]. بنابراین چنار *P. orientalis* با مکانسیم کاهش تراکم روزنه‌ها و برعکس شاه‌توت و عرعر با افزایش تعداد روزنه در با آلودگی هوا مقابله می‌کنند.

در پژوهش حاضر میزان پروتئین کل برگ هر سه گونه در مناطق آلوده نسبت به منطقه پاک افزایش معناداری را نشان داد و این نسبت در شاه‌توت *M. nigra*، چنار *P. orientalis* و *A. altissima* منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک به ترتیب برابر ۴۸/۹۳، ۵۵/۷۶ و ۲۳/۵۳ درصد بوده است. این امر نشان می‌دهد بسته به نوع گونه میزان درصد افزایش یا کاهش پروتئن کل برگ درختان متاثر از آلودگی هوا تغییرات متفاوتی داشته است. در مطالعات مشابه مقدار پروتئین کل برگ درختان نظیر زبان گنجشک (امینی و همکاران ۱۳۹۵) [۲۶]؛ گیاه *Laurus nobilis* L (Sanaeirad و همکاران، ۲۰۱۷) و گیاه Yellow Melon (Zelaya و همکاران، ۲۰۲۰) گونه‌های در مناطق آلوده نسبت به مناطق با آلودگی کمتر یا پاک افزایش یافته است [۲۷،۲۸]. افزایش مقادیر پروتئین برگ درختان مقام در مناطق آلوده می‌تواند ناشی از تحریک سنتز آمینواسیدهای توسط برخی از آلاینده‌های هوا نظیر دی‌اکسید گوگرد باشد. علاوه بر این Zelaya و همکاران (۲۰۲۰) گزارش نمودند محتوای پروتئین در بافت‌های گیاه و محتوای اسید اگزالیک و سیتریک آزاد شده توسط گیاه در ریزوسفر یا فیلوسفر می‌تواند باعث افزایش یا کاهش جذب، تجمع و انتقال Cu، Zn و Pb در اندامهای مختلف گیاه خربزه شود. البته ذکر این نکته لازم است تنش‌های آلودگی با تولید ROS می‌تواند باعث آسیب جدی به پروتئین و سایر ماکرومولکول‌های گیاه و در نتیجه کاهش مقدار پروتئین در گیاهان حساس شود [۲۸].

به طور کلی در حالت طبیعی بین مقدار تولید رادیکال‌های آزاد و میزان جاروب کردن آنها از سطح سلولی تعادلی وجود دارد که گیاه را در حالت نسبتاً پایدار نگه می‌دارد، لذا تنش اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که سطح رادیکال‌ها در سلول از میزان آنتی‌اکسیدان‌ها و سایر ترکیب‌های سمیت‌زدا تجاوز کند. اصولا شواهد نشان می‌دهند در هنگام تنش آلودگی قدرت انتقال قندها در آوندهای آبکش گیاهان کاهش یافته و به دنبال این امر مصرف آنها در اندام‌های مصرف کننده گیاه نیز کاهش می‌یابد، از اینرو به دلیل تجمع قندها میزان آنها در سلول‌های برگ افزایش می‌یابد [۲۹]. قندهای محلول در گیاهان به‌عنوان محافظت کننده‌های اسمزی در تنظیم اسمزی سلول عمل نموده و سبب کاهش از دست دادن آب سلول و نگهداری تورژسانس می‌شوند. به همین جهت به عنوان اسمولیت‌های سازگار در گیاه شناخته می‌شوند که در پاسخ به تنش‌های محیطی در گیاه تجمع می‌یابند. از سوی دیگر گیاهان مقاوم به آلودگی هوا نسبت به گونه‌های حساس دارای تجمع بیشتری از قندهای محلول در هنگام مواجه با استرس‌های محیطی هستند [۳۰]. تجمع بالای قندهای محلول سبب کاهش پتانسیل آبی گیاه می‌گردد و از صدمات اکسیداتیو جلوگیری نموده و همچنین سبب پایداری غشا و پروتئین‌ها تحت شرایط تنش‌های محیطی می‌شود [۳۱]. بنابراین محاسبه قندهای محلول در گیاهان روش مناسبی جهت ارزیابی و انتخاب گونه مقاوم به آلودگی است. در این راستا آنالیز مقادیر غلظت قندهای محلول برگ سه گونه درختی در مناطق آلوده و مناطق پاک نشان داد میانگین غلظت قندهای محلول در مناطق آلوده بیشتر از مناطق پاک بوده و این نسبت در شاه‌توت، چنار و عرعر به ترتیب برابر ۹۰/۲۲، ۳۸/۶۵ و ۸۸/۸۸ درصد بوده است. لذا این مساله مقاوم بودن گونه‌ها درختی نسبت به آلودگی هوا را تایید می‌کند. همچنین قابل ذکر است نتایج این تحقیق با یافته‌های Omidi و همکاران(۱۳۹۶) [۲] و Uka و همکاران(۲۰۱۹) مبنی بر افزایش غلظت قندهای محلول در گونه‌های درختی مقاوم در مناطق آلوده همسو است [۸]. El-Khatib و همکاران (۲۰۲۰) میزان قندهای محلول برگ دو گونه *E. globulus* و *F. nitida* را در مناطق آلوده و تحت استرس فلزات سنگین را کمتر از غلظت آنها در مناطق پاک گزارش نمودند، آنها دلایل این امر را ناشی مهار بیوسنتز کلروفیل یا تحریک میزان تنفس در اثر

حضور آلاینده بیان کردند که این امر منجر به کاهش محتوای کربوهیدرات می‌شود [۱۷].

آنتوسیانین‌ها از شاخص‌های بیوشیمیایی ارزیابی مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی(ویروسها، باکتریها و قارچ‌ها) و غیر زیستی(فلزات سنگین، شوری، خشکی و غیره) هستند که در واکنش به این تنش‌ها از جمله حضور فلزات سنگین هوا افزایش می‌یابند، این ترکیبات به واسطه فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود، سبب کاهش صدمات و اثرات تخریبی ROS، کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و در نتیجه محافظت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند. در این پژوهش نتایج نشان داد میانگین غلظت آنتوسیانین در مناطق آلوده بیشتر از مناطق پاک بوده است و این میزان در منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک به ترتیب در شاه‌توت(*M. nigra*) ، چنار (*P. orientalis*) و عرعر (*A. altissima*) برابر ۱۹/۶۴، ۸۸/۸ و ۸۰/۰۵ درصد می‌باشد. این نتایج با یافته‌های همسو Mao و همکاران(۲۰۲۲) [۳۲]؛ Hale و همکاران(۲۰۱۲) [۳۳] و Zupka و همکاران (۲۰۱۹) می‌باشد [۳۴]. Sytar و همکاران، ۲۰۲۰ گزارش نمودند در گیاه Arabidopsis غلظت بالای فلزات سنگین هوا سبب افزایش محتوی آنتوسیانین در گیاه شده است [۳۵]. آنتوسیانین‌ها از مهمترین ترکیبهای آنتی‌اکسیدانی هستند که نه تنها می‌توانند رادیکالهای آزاد موجود در سلول را از بین ببرند بلکه می‌توانند مانع تولید آنها (رادیکال‌های آزاد) گیاه شوند. همچنین محققان این احتمال را می‌دهند که آنتوسیانین‌ها سبب تسهیل فرایند انتقال و ورود فلزات سمی به واکوئول سلولها و در نتیجه جمع‌آوری آنها از سایر بخشها به این اندام شوند. علاوه بر این آنتوسیانین‌ها با فلزات کمپلکس تشکیل می‌دهند، که این عمل ممکن است در تسهیل فرایند انتقال آنها به درون واکوئل و در نتیجه ترسیب و بی‌تحرکی فلزات موثر باشند. [۳۵]

نتیجه گیری

هدف مطالعه‌ی حاضر ارزیابی مقاومت گونه درختی چنار، شاه‌توت و عرعر نسبت به آلودگی هوا با استفاده از زیست نشانگرهای بیوفیزیکی و بیو شیمیایی برگ بود. به طور کلی براساس یافته‌های بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت در ارتباط با تراکم روزنه‌ها درختان واکنش متفاوتی نسبت به آلودگی هوا از خود نشان می‌دهند که این امر می‌تواند به دو طریق افزایش یا کاهش تراکم روزنه‌ها باشد. درخت چنار *P. orientalis* جهت مقابله به آلودگی هوا از طریق کاهش تراکم روزنه‌ها و برعکس شاه‌توت و عرعر با افزایش تعداد آنها پاسخ داده است. افزایش مقدار پروتئین کل، قندهای محلول وآنتوسیانین موجود در برگ درختان منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک بیانگر این موضوع است که درختان نسبت به مقدار آلودگی آلاینده‌های مقاوم هستند و از این استراتژیهای مفید جهت سازگاری مناسب به ورود و حضور آلاینده‌ها استفاده می‌کنند.

References

1. Majee CK, Ali SY, Padhy PK. Effects of atmospheric dust particles on common medicinal plants in an industrial area of West Bengal, India. Environmental Monitoring and Assessment. 2023;195(8):978..
2. Omidi N, Seyedi N, Banj Shafiei A, Abbaspour N. Effect of Air Pollution Stress on Proline, Carbohydrates and Photosynthetic Pigments in Box Elder (Acer negundo), Case Study: Urmia, Iran. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 2018;31(3): 526-38.
3. Azimi Yancheshmeh R, Moeinaddini M, Feyz Nia S, Shahbazi R. Assessment of the Environmental Pollution of Trace Elements in Atmospheric Deposition of Karaj City Using Enrichment Factor and Ecological Risk Index in 2018. Journal of Environmental Health Engineering 2020;7(3): 356-75.
4. Hatami-Manesh M, Mortazavi S, Solgi E, Mohtadi A. Assessing the uptake and accumulation of heavy metals and particulate matter from ambient air by some tree species in Isfahan Metropolis, Iran. Environmental Science and Pollution Research. 2021 ;28:41451-63..
5. Weerakkody U, Dover JW, Mitchell P, Reiling K. Particulate matter pollution capture by leaves of seventeen living wall species with special reference to rail-traffic at a metropolitan station. Urban forestry & urban greening 2017;27: 173-86.
6. Long J, Tan D, Deng S, Lei M. Uptake and accumulation of potentially toxic elements in colonized plant species around the world's largest antimony mine area, China. Environmental geochemistry and health 2018;40(6): 2383-94.
7. Hatami-Manesh M, Mortazavi S, Solgi E, Mohtadi A. Assessing the capacity of trees and shrubs species to accumulate of particulate matter (PM10, PM2.5 and PM0.2). Iranian Journal of Health and Environment 2019;12(1): 1-16.
8. Uka UN, Belford EJ, Hogarh JN. Roadside air pollution in a tropical city: physiological and biochemical response from trees. Bulletin of the National Research Centre 2019;43(1): 90.
9. Singh S, Pandey B, Roy LB, et al. Tree responses to foliar dust deposition and gradient of air pollution around opencast coal mines of Jharia coalfield, India: gas exchange, antioxidative potential and tolerance level. Environmental Science and Pollution Research 2020: 1-15.
10. Emamverdian A, Ding Y, Mokhberdoran F, Xie Y. Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. The Scientific World Journal 2015;2015.
11. Shahid M, Dumat C, Khalid S, et al. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. Journal of hazardous materials 2017;325: 36-58.
12. Tak AA, Kakde UB. Biochemical, Morphological and Anatomical Changes in Tree Foliage Exposed to Vehicular-Pollution. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology 2020;5(3): 699-708.
13. Massadeh A, Massadeh H. Uptake of Cd and Pb from aqueous solutions using selected tree leaves through phytoremediation. Water, Air, & Soil Pollution 2019;230(9): 216.
14. Rastgoo L, Alemzadeh A, Afsharifar A. Isolation of two novel isoforms encoding zinc-and copper-transporting P1B-ATPase from Gouan (Aeluropus littoralis). Plant Omics Journal 2011;4(7): 377-83.
15. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of botany 2012;2012.
16. Taheri Otaghsara SH, Aghajanzadeh TA, Jafari N. Comparison of physiological responses of Acer Velutinum Bioss. to air pollutants in Mazandaran and three areas of Tehran. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 2020;32(4): 837-49.
17. El-Khatib A, Youssef N, Barakat N, Samir N. Responses of Eucalyptus globulus and Ficus nitida to different potential of heavy metal air pollution. International Journal of Phytoremediation 2020: 1-14.
18. Amini F, Fattah RN, Askari M. Effects of air pollutants on the physiology and anatomy of Fraxinus excelsior leaves within the Iran's Aluminum plant in ARAK city. Journal of Plant Process and Function 2016;5(17): 83-95.
19. Hellebust J, Craigie J. Physiological and Biochemical Methods:(handbook of Phycological Methods II): Cambridge University Press; 1978.
20. Hamidi H, Masoudian N, Saeedisar S. Nitric oxide effect on proline, soluble sugars and activity of antioxidant enzymes in Pb stress terms in Brassica napus L. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 2017;29(4): 775-82.
21. Khosropour E, Atarod P. Heavy metal accumulation and anatomical responses of plane plant to urban pollutions in two areas of Tehran. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 2019;31(4): 791-800.
22. Rai R, Rajput M, Agrawal M, Agrawal S. Gaseous air pollutants: a review on current and future trends of emissions and impact on agriculture. Journal of Scientific Research 2011;55(771): 1.
23. Rashidi F. Air pollution tolerant Species in city green area. Journal of natural environment (iranian journal of natural resources) 2019;72(2): 251-61.
24. Pourkhabbaz A, Rastin N, Olbrich A, et al. Influence of environmental pollution on leaf properties of urban plane trees, Platanus orientalis L. Bulletin of environmental contamination and toxicology 2010;85(3): 251-5.

25. Larcher W. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups: Springer Science & Business Media; 2003.

26. Amini f, Fattah RN, Askary MM. Anatomical Study of the Air Pollution Effect on Robinia pseudoacacia and Ailanthus altisima leaves near to Iran Aluminum Co.(IRALCO). Journal of Cell & Tissue 2016;5(4): 501-11.

27. Sanaeirad H, Majd A, Abbaspour H, Peyvandi M. The effect of air pollution on proline and protein content and activity of nitrate reductase enzyme in Laurus nobilis L. plants. Mol Biol Res 2017;7: 99-105.

28. Zelaya CRI, Gadelha JC, Hernandez FFF, Escobar MEO. Heavy Metals Behavior in the Presence of Organic Acids and Proteins in the Rhizosphere and Plant Tissues of Yellow Melon var. Natal (Cucumis melo L.) Cultivated in a Quartzarenic Neosol. Water, Air, & Soil Pollution 2020;231(12): 1-14.

29. Saxena P, Kulshrestha U. Biochemical effects of air pollutants on plants. Plant responses to air pollution: Springer; 2016. p. 59-70.

30. Sen A, Khan I, Kundu D, et al. Ecophysiological evaluation of tree species for biomonitoring of air quality and identification of air pollution-tolerant species. Environmental monitoring and assessment 2017;189(6): 262.

31. Bamniya B, Kapoor C, Kapoor K, Kapasya V. Harmful effects of air pollution on physiological activities of Pongamia pinnata (L.) Pierre. Clean Technologies and Environmental Policy 2012;14(1): 115-24.

32. Mao HT, Wang XM, Wu N, Chen LX, Yuan M, Hu JC, Chen YE. Temporal and spatial biomonitoring of atmospheric heavy metal pollution using moss bags in Xichang. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2022 ;239:113688.

33. Hale KL, Tufan HA, Pickering IJ, et al. Anthocyanins facilitate tungsten accumulation in Brassica. Physiologia plantarum 2002;116(3): 351-8.

34. Zupka S, Vollmannová A, Harangozo Ľ, Medvecký M. Relationship between mercury as well as cadmium and anthocyanin contents in wild forest fruits from environmentally burden region of the Slovakia. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 2020;2020: 192-7.

35. Sytar O, Ghosh S, Malinska H, et al. Physiological and molecular mechanisms of metal accumulation in hyperaccumulator plants. Physiologia Plantarum 2020.

Journal of Environmental Health Engineering, October 2023; Vol.11, No. 1: 116 - 129

Assessment the Response of Urban Tree Species to Air Pollution Using Biophysical and Biochemical Leaf Biomarkers

Masoud Hatami-manesh[1]*, Samar Mortazavi[2] , Eisa Silgi[3], Ahmad Mohtadi[4]

[1]*Department of Wetlands Ecosystem Management and Planning, Department of Environment (DoE)*
[2]*Department of environmental science, Faculty of Natural Resources and environments, Malayer University, Malayer, Hamedan, Iran*
[3]*Department of environmental science, Faculty of Natural Resources and environments, Malayer University, Malayer, Hamedan, Iran*
[4]*Department of Biology, Faculty of Sciences, Yasouj University, Yasouj, Iran*

Email: Masoud_hatami68@yahoo.com

Received: 25 December 2023, Accepted: 10 Junuary 2024

ABSTRACT

Background: : Regarding to the role of trees in reduction and absorption air pollutants, assessing the tolerance of different tree species to environmental pollutants is very much important in order to select suitable species around any polluted place. Therefore, the aim of this study was to evaluate the tolerance of *P. orientalis*, *M. nigra* and *A. altissima* species to air pollution using biophysical and biochemical leaf biomarkers.

Methods: For this purpose, sampling of the leaves from all three species was carried out at six stations in Isfahan, after being transferred to the laboratory, the Stomatal density, total protein content, soluble sugars and anthocyanin were calculated.

Results: The results showed that *M. nigra* and *A. altissima* species responded to air pollution by increasing and *P. orientalis* by reducing the density of stomata. The amount of total protein content of *M. nigra*, *P. orientalis* and *A. altissima* leaves were 48.93, 55.76 and 23.53% higher in polluted areas than in unpolluted areas. The value of soluble sugars and anthocyanins in *M. nigra*, *P. orientalis* and *A. altissima* leaves were found (90.22, 38.65 and 88.88) and (19.64, 88.8 and 80.05٪) in polluted areas compared to non-polluted areas.

Conclusion: According to the findings, it can be concluded that trees have differently respond to air pollution in relation to stomata density, which can be done in two ways, increasing or decreasing stomata density. Increasing the amount of total protein, soluble sugars and anthocyanins in the leaves of trees in the polluted area indicates that these trees are tolerant to pollutants and they applied these useful strategies to adapt and deal with pollutants.

Keywords: Air pollution, Leaf Biomarkers, Stomatal density, Anthocyanin, Heavy metals