

## بررسی اثر آلاینده‌های هوا بر فیزیولوژی و آناتومی برگ زبان گنجشک در محدوده کارخانه آلومینیوم ایران در شهر اراک

امینی فریبا\*، فتاح راوندی نفیسه و عسکری مهری

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، کد پستی: ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۱/۲۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۰/۰۹)

### چکیده:

آلودگی هوای شهری یک نگرانی عمده محیطی، به خصوص در شهرهای بزرگ کشورهای در حال توسعه است. استان مرکزی از جمله استان‌های صنعتی کشور می‌باشد که به علت سازه‌های صنعتی آلودگی هوای بالایی دارد. بررسی پاسخ‌های عملکردی و ساختاری زبان گنجشک نسبت به آلاینده‌های هوا هدف این تحقیق بوده است. با استفاده از اطلاعات سازمان حفاظت محیط زیست، محدوده کارخانه آلومینیوم به عنوان منطقه آلوده و منطقه هفتاد قله اراک به عنوان منطقه پاک انتخاب شد و نمونه برگ‌های گیاه زبان گنجشک به‌طور همزمان از این دو منطقه برداشت گردید و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و آناتومیکی برگ گیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تحت تأثیر آلودگی هوا میزان کلروفیل، پروتئین، فعالیت گایاکول پراکسیداز، عناصر فسفر و پتاسیم برگ افزایش معنی‌داری یافت ولی میزان نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، پرولین، عناصر سدیم و گوگرد، فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز و محتوای آب تغییر معنی‌داری (سطح ۰/۰۵) را نشان نداد. تراکم کرک سطح فوقانی و تحتانی برگ، گشودگی روزنه، طول پارانشیم نردبانی و قطر پارانشیم اسفنجی تغییر معنی‌داری نشان نداد ولی اندازه کرک در هر دو سطح برگ افزایش معنی‌داری داشت. نتایج حاکی از تغییرات شاخص‌های گیاه در جهت افزایش مقاومت گیاه در برابر آلودگی هوای منطقه می‌باشد. بنابراین کاشت این گیاهان برای فضای سبز مناطق آلوده مشابه می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: آلودگی هوا، آنتی اکسیدان‌ها، ساختار برگ، کلروفیل و عناصر

### مقدمه:

در محتوای رنگیزه‌ها، آنتی اکسیدان‌ها و سایر شاخص‌های بیوشیمیایی می‌شوند که این تغییرات می‌توانند اطلاعات ارزشمندی در مورد وضعیت فیزیولوژیک گیاهان در معرض آلودگی هوا مهیا کنند (Assadi et al., 2011). عمومی‌ترین اثر آلودگی هوا در گیاهان محوشدن تدریجی کلروفیل و زرد شدن برگ‌هاست که ممکن است با کاهش ظرفیت فتوسنتز مرتبط باشد (Joshi and Swami, 2007).

مقدار حساسیت گیاه و آسیب وارد به غشاء با اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید (MAD) که حاصل قرار گرفتن

آلودگی هوا به شرایط خاص جوی گفته می‌شود که مواد معینی در غلظت‌هایی وجود داشته باشند که اثرات نامطلوبی روی انسان و اکوسیستم بگذارند. اکسیدهای نیتروژن، اکسیدهای گوگرد، مونوکسید کربن، ذرات معلق، هیدروکربن‌ها و دی‌اکسید کربن از جمله گازهای آلاینده و گلخانه‌ای هستند که به جو راه می‌یابند و ترکیب شیمیایی اتمسفر در نتیجه افزایش گازها، مواد فرار و ذرات معلق تغییر می‌کند (Rai et al., 2011). وقتی آلاینده‌ها به وسیله گیاهان جذب می‌شوند باعث تغییراتی

زیاد مواد حل شونده سازگار که به عنوان اسمولیت عمل می‌کنند صورت می‌گیرد (راهداری، ۱۳۹۰). آلودگی هوا با ایجاد باران‌های اسیدی، روی خاک اطراف ریشه گیاه، سبب نشت و خروج مواد مغذی قابل ملاحظه‌ای از داخل خاک شده، یون هیدروژن را جانشین مواد غذایی قابل جذب برای گیاه می‌سازد و pH خاک را اسیدی می‌کند (Vallero, 2008).

برخی محققین از آناتومی گیاهان، علاوه بر استفاده در سیستماتیک، در بیان حضور آلودگی‌های هوا استفاده می‌کنند. تغییرات آناتومی گیاه به عنوان یک تکنیک آگاه کننده و نشانگر آلودگی‌های زیست محیطی می‌باشد (Omosun *et al.*, 2008). میزان جذب آلاینده‌ها، به ساختار برگ‌ها وابسته است. موم کوتیکول و کرک‌های برگ، مناطقی اصلی برای اثر گذاری هستند. تعداد کرک، خصوصیت بسیار مهمی در گیاه پالایی است. مطالعات متعدد نشان داده است که بعضی از گونه‌ها مانند چنار، دارای سطح برگی موم‌دار در اپیدرم تحتانی هستند که می‌تواند گرد و غبار و دیگر آلاینده‌ها را برای کاهش آلودگی هوا جمع آوری کند (Gostin, 2009). روزنه مکان‌هایی برای جذب آلودگی هستند. تعداد، اندازه، تراکم و فراوانی روزنه می‌تواند نشان دهنده مقاومت برگ‌ها به آلودگی باشند. غلظت نسبتاً بالای آلاینده‌ها از طریق روزنه‌ها جذب می‌شود که مسیر اولیه ورود آن‌ها به سلول‌های مزوفیل می‌باشد. تنش آلودگی هوا، اندازه و ساختار برگ را کمی تغییر می‌دهد و با تغییر در اندازه سلول‌های برگ در جهت کنترل جذب آلاینده‌های گیاهی رفتار می‌کند (Meerabai *et al.*, 2012). توانایی گونه‌های گیاهی در جذب و دفع آلاینده‌ها با توجه به سطح برگی آن‌ها متفاوت است (Muneer *et al.*, 2013). هدف مطالعه حاضر، بررسی مکانیسم مقاومت گیاه زبان گنجشک با توجه به اثرات این آلاینده‌ها بر شاخص‌های مختلف فیزیولوژیکی و آناتومیکی گیاه است.

#### مواد و روش‌ها:

**معرفی منطقه مورد مطالعه:** طبق اطلاعات موجود در سازمان حفاظت محیط زیست استان مرکزی، محدوده کارخانه آلومینیم

اسیدهای چرب غیراشباع در معرض تنش است نیز مشخص می‌شود. افزایش تنش با ایجاد تغییر در اسیدهای چرب غیر اشباع بر ساختار و ویژگی‌های غشای سلولی اثر گذاشته و موجب ایجاد رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش نفوذپذیری و تراوایی غشای سلولی و در نتیجه تراوش اسمولیت‌ها در گیاهان حساس می‌شود که نشان‌دهنده آسیب تنش در سطح سلولی می‌باشد (Elkahoui *et al.*, 2005).

تنش‌های محیطی به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن باعث آسیب‌های اکسایشی در گیاه می‌شوند که تولید اکسیژن‌های فعال در طی فعالیت‌هایی مانند انتقال الکترون و مسیرهای متابولیکی می‌باشد. اثرات رادیکال‌های اکسیژن، آسیب به بیومولکول‌هایی مانند لیپیدهای غشایی (پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع)، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و سیستم‌های غشایی است. مکانیسم‌های کاهش تنش اکسیداتیو نقش مهمی در ایجاد مقاومت گیاه در برابر سمیت دارند (Anil kumar *et al.*, 2009). گیاهان دارای سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPOX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند پرولین هستند که به صورت هماهنگ با هم برای کنترل اکسیداسیون‌های کنترل نشده عمل می‌کنند و توسط پالایش گونه‌های فعال اکسیژن، سلول‌های گیاهی را از آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Gill and Tuteja, 2010).

در نواحی مختلف جهان میزان مواد معدنی در گیاهان بستگی به اثر متقابل عوامل متعددی از قبیل نوع خاک، گونه‌ی گیاهی، مراحل رشد، اقلیم، تولید و اثر متقابل عناصر در زمان جذب دارد. پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در سطوح متفاوت است و در مقیاس سلولی، گیاه آثار مضر تنش را با افزایش متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از طریق تجمع مواد آلی و معدنی در سلول‌های خود کاهش می‌دهد و فشار تورژسانس سلول خود را منظم می‌کند. این روش از طریق جذب یون‌های معدنی توسط گیاه از محیط خارجی مانند افزایش میزان تجمع پتاسیم در اندام هوایی و یا از طریق سنتز

میزان کلروفیل از روش Arnon (۱۹۴۹) استفاده شد و میزان کلروفیل  $a$ ,  $b$ ، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل  $a/b$  بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ محاسبه گردید. میزان نشت پذیری غشاء با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی برحسب واحد میکروزیمنس ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ ) بر سانتی‌متر اندازه‌گیری شد (Dionisio-Sese and Tobita, 1998). اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) به عنوان محصول شاخص واکنش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشا سلول انجام گرفت. پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد.

بافت تازه برگ در بافر سدیم فسفات حاوی EDTA سائیده و سانتریفوژ گردید. از محلول حاصل که حاوی عصاره آنزیمی بود جهت تعیین فعالیت آنی اکسیدان‌های آنزیمی کاتالاز (CAT) با روش Cakmak و Marschner (۱۹۹۲) گایاکول پراکسیداز (GPOX) با روش Polle و همکاران (۱۹۹۴) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) از روش Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) استفاده گردید. برای سنجش محتوای آب بافت، وزن اولیه برگ به‌عنوان وزن تر (Fw) در نظر گرفته شد. وزن نمونه‌ها بعد از ۴۸ ساعت دردمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری و به عنوان وزن خشک (Dw) ثبت گردید سپس محتوای آبی طبق فرمول زیر محاسبه شد (Catsky, 1960).

FW وزن تر و DW وزن خشک است.

$$\text{Water content} = (\text{Fw} - \text{Dw}) / \text{Fw} \times 100$$

جهت اندازه‌گیری عناصر فسفر و کلسیم عصاره گیاهی طبق روش قربانلی و همکاران (۱۳۸۶) استخراج گردید. اندازه‌گیری فسفر از روش Kohler و همکاران (۲۰۰۷) و میزان کلسیم نیز با روش Bao (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. غلظت دو عنصر سدیم و پتاسیم نیز توسط دستگاه فلیم فوتومتر اندازه‌گیری شد (Wang and Zhao, 1995). اندازه‌گیری گوگرد نیز با روش Higjano و همکاران (۲۰۰۵) انجام گرفت.

ایران (ایرالکو) در شمال شرق اراک، به عنوان منطقه آلوده و منطقه حفاظت شده هفتادقله واقع در ۳۵ کیلومتری شرق اراک به عنوان منطقه پاک در نظر گرفته شد. ایرالکو اولین تولیدکننده شمش‌های آلومینیم در ایران، در ۳۴ درجه و ۶ دقیقه عرض شمالی و ۴۹ درجه و ۴۶ دقیقه طول شرقی در زمینی به مساحت ۲۳۲ هکتار با ارتفاع ۱۸۰۳ متر، بارندگی سالانه ۴۳۵ میلی‌متر، رطوبت نسبی ۴۴/۳، حداکثر دما ۳۹/۰۴ درجه سانتیگراد و حداقل دما ۲۳/۰۶- درجه سانتیگراد در حاشیه اراک واقع شده است (جعفری و همکاران، ۱۳۹۰). منطقه هفتاد قله دارای اقلیم خشک بیابانی معتدل و نیمه خشک سرد است و در موقعیت جغرافیایی ۵۰ درجه و ۸ دقیقه طول شرقی و ۳۴ درجه و ۵ دقیقه عرض شمالی و با ارتفاع ۱۷۵۰ متر از سطح دریا قرار گرفته است و دارای بارندگی متوسط سالانه ۳۴۰ میلی‌متر و حداقل دمای سالانه ۲۵- درجه سانتی‌گراد و حداکثر دمای سالانه ۴۰ درجه سانتی‌گراد است (درویش صفت، ۱۳۸۵).

**نمونه برداری و آماده سازی نمونه‌های گیاهی:** نمونه‌های برگ گیاه زبان گنجشک مناطق پاک و آلوده که از نظر سنی و مرحله رویشی تقریباً در شرایط مشابهی بودند همزمان در شهریورماه ۱۳۹۲ برداشت و در دمای ۴ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه منتقل گردیدند. برگ‌ها با آب معمولی و سپس با آب مقطر شستشو داده شده و رطوبت سطح آن‌ها گرفته شد. برای تعدادی از شاخص‌ها که نیاز به نمونه تازه بود اندازه‌گیری‌ها انجام گرفت. مقداری از برگ‌های گیاهان جمع آوری شده پس از خشک شدن در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، برای اندازه‌گیری عناصر در نظر گرفته شد. تعدادی از برگ‌ها در محلول فیکساتور (فرمالین، اتانول، اسید استیک و آب) به نسبت حجم به حجم (۲۲: ۵: ۶۹: ۴) (Gostin, 2009) برای برش‌گیری قرار داده شدند. سایر برگ‌ها نیز در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند و برای اندازه‌گیری سایر شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفتند.

**اندازه‌گیری شاخص های فیزیولوژیکی:** به منظور تعیین

کلروفیل کل برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک افزایش معنی داری داشت که میزان افزایش به ترتیب، ۰/۲۰/۵۶٪، ۰/۳۰٪ و ۰/۲۲/۳۰٪ بود (نمودار ۱).

آلودگی هوا بر نسبت کلروفیل  $a/b$  نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و پرولین برگ زبان گنجشک اثر معنی داری در سطح ۰/۰۵ نداشته است (جدول ۱).

بررسی داده‌ها نشان داد، آلودگی هوا بر میزان پروتئین برگ زبان گنجشک منطقه آلوده تأثیر معنی داری در سطح ۰/۰۵ داشته است (جدول ۱). میانگین پروتئین برگ زبان گنجشک منطقه آلوده ۳۵/۰۶ و در منطقه پاک ۱۴/۵۵ میلی گرم بر گرم پروتئین محاسبه شد. آنالیز داده‌ها براساس t-test افزایش معنی دار پروتئین در برگ زبان گنجشک منطقه آلوده را نشان داد. میزان پروتئین برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک ۲/۴۴ برابر افزایش نشان داد (شکل ۲-a).

**اثر آلودگی هوا بر میزان فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز) و عناصر (فسفر، کلسیم، سدیم، پتاسیم و گوگرد) و محتوای آب: نتایج** آنالیز داده‌ها نشان داد که آلودگی هوا بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز زبان گنجشک منطقه آلوده اثر معنی داری نداشته است ولی میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز برگ زبان گنجشک تأثیر معنی داری را نشان داد (جدول ۲). در منطقه آلوده و پاک میانگین میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز به ترتیب  $1 \mu\text{mole mg}^{-1} \text{Protein min}^{-1}$  و ۱۲/۸۵ و ۵/۷۰ بدست آمد. نتایج داده‌ها افزایش معنی دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک را نشان داد که میزان آن ۲/۲۵ برابر بود (شکل ۲-b).

آلودگی هوا بر میزان فسفر، زبان گنجشک اثر معنی داری در سطح ۰/۰۵ داشت (جدول ۲). تجمع فسفر برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک به طور معنی داری افزایش یافت که میزان آن ۰/۲۵٪ بود (شکل ۳-a).

نتایج آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که غلظت کلسیم برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به گیاهان مشابه از منطقه پاک اختلاف معنی داری داشت. (جدول ۲). میانگین یون کلسیم

**بررسی اپیدرم:** اپیدرم‌های سطح فوقانی (Adaxial) و تحتانی (Abaxia) برگ زبان گنجشک با سافرانین ۱۰ درصد رنگ آمیزی شدند، سپس تراکم کرک و روزنه‌ها در دو سطح فوقانی و تحتانی اپیدرم برگ تمامی نمونه‌های آلوده و شاهد در مساحت ۰/۱۳ میلی مترمربع شمارش گردید و بر حسب میلی متر مربع محاسبه شد. همچنین اندازه کرک و دهانه روزنه بر حسب میکرومتر ( $\mu$ ) به وسیله گراتی کیول اندازه‌گیری شد (Noori et al., 2002).

**اندازه‌گیری ابعاد سلول‌های مزوفیل:** نمونه‌های برگ تثبیت شده پس از فرآیند پاساژ بافتی (دستگاه پاساژ بافتی Leica، آلمان)، در پارافین بلوک‌گیری شدند (Kiernan, 1999). سپس با میکروتوم (مدل Leitz 1512 ساخت آلمان) برش‌های ۱۰ میکرونی از بافت برگ تهیه و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) انجام شد (Lillie, 1965). پس از عکسبرداری از نمونه‌های رنگ آمیزی شده طول سلول‌های نردبانی و قطر سلول‌های اسفنجی ناحیه مزوفیل برگ توسط نرم افزار موتیک (MOTIC IMAGES ADVANCED 3.2 SOFTWARE) اندازه‌گیری شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** آزمایشات انجام شده برای هر گیاه در سه تکرار و در طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS16 و برای مقایسه میانگین‌ها از روش t-test برای نمونه‌های مستقل و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

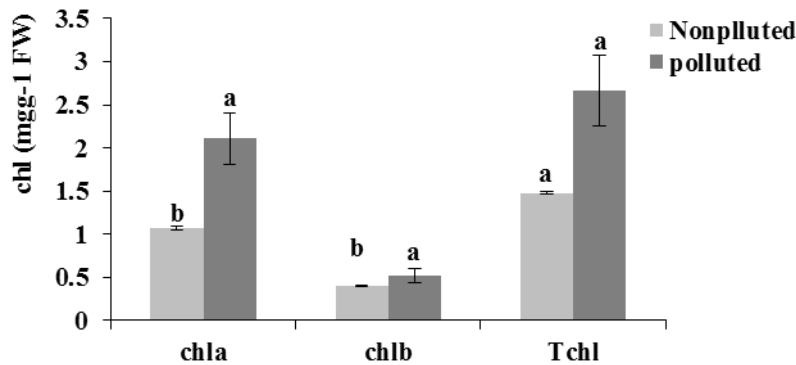
## نتایج:

**اثر آلودگی هوا بر میزان کلروفیل، نشت یون، مالون دی آلدئید، پرولین و پروتئین:** با توجه به نتایج داده‌ها، آلودگی هوا بر میزان کلروفیل برگ زبان گنجشک تأثیر معنی داری در سطح ۰/۰۵ نشان داد (جدول ۱). میانگین کلروفیل  $a$ ، کلروفیل  $b$  و کلروفیل کل برگ زبان گنجشک منطقه آلوده به ترتیب، ۱/۳۰، ۰/۵۲ و ۱/۸۱ میلی گرم بر گرم و در منطقه پاک به ترتیب ۱/۰۷، ۰/۴۰ و ۱/۴۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد. بررسی آنالیز داده‌ها نشان داد کلروفیل  $a$ ، کلروفیل  $b$  و

جدول ۱- آنالیز واریانس تأثیر آلودگی هوا بر میزان کلروفیل، نشت یون، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، پرولین و پروتئین برگ زبان گنجشک با روش *t-test*.

کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل کل	کلروفیل <i>a/b</i>	نشت یون	مالون دی‌آلدئید	پرولین	پروتئین
۰/۰۲*	۱۱/۳۷*	۱۲/۲۴*	۰/۳۸ <sup>ns</sup>	۱/۰۵ <sup>ns</sup>	۶/۰۲ <sup>ns</sup>	۱/۳۹ <sup>ns</sup>	۴/۴۲*

<sup>ns</sup>: معنی‌دار نیست. \* : معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ \*\* : معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

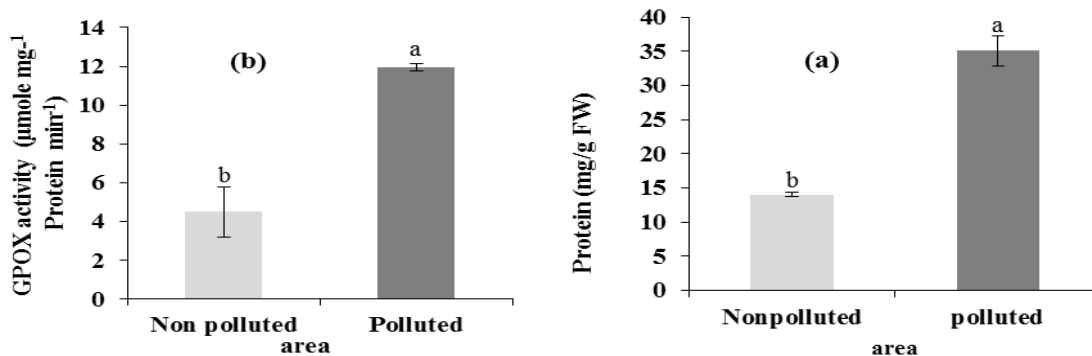


شکل ۱- تأثیر آلودگی هوا بر میزان کلروفیل *a* (chl a)، کلروفیل *b* (chl b) و کلروفیل کل (Tchl) برگ زبان گنجشک، خطوط خطا نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است. و حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ بر اساس روش *t-test* است.

جدول ۲- آنالیز واریانس تأثیر آلودگی هوا بر میزان فعالیت آنی اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)، میزان عناصر (فسفر، کلسیم، سدیم و پتاسیم) و محتوای آب برگ زبان گنجشک با استفاده از روش *t-test*.

کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	گایاکول پراکسیداز	فسفر	کلسیم	سدیم	پتاسیم	گوگرد	محتوای آب
۰/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۷۶**	۰/۸۰*	۰/۴۱*	۰/۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۴۳**	۰/۳۰ <sup>ns</sup>	۰/۵۱ <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup>: معنی‌دار نیست. \* : معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ \*\* : معنی‌دار در سطح ۰/۰۱



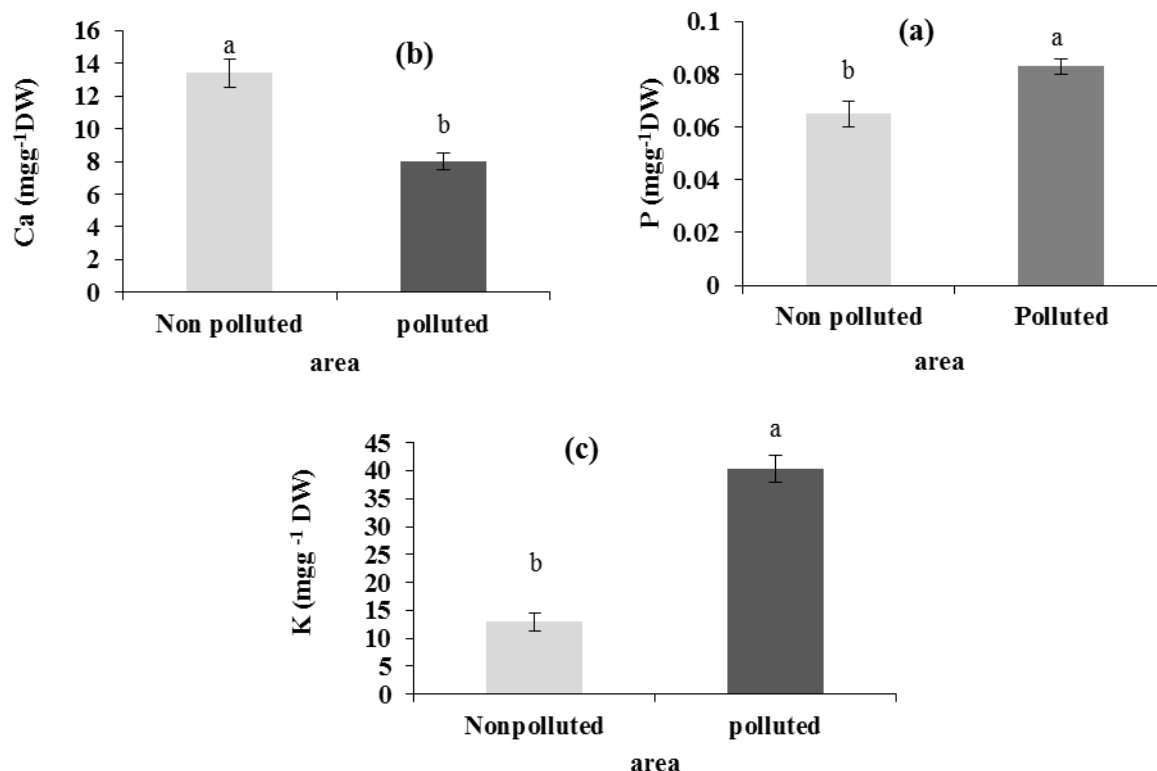
شکل ۲- تأثیر آلودگی هوا بر میزان پروتئین (a) و فعالیت گایاکول پراکسیداز (b) برگ زبان گنجشک. خطوط خطا نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۱ بر اساس روش *t-test* است.

پاک بطور معنی‌داری کاهش یافته است که میزان کاهش، ۳۸/۱۸ درصد محاسبه شد (شکل ۳-ب).

اثر آلودگی هوا بر میزان یون پتاسیم برگ زبان گنجشک در

برگ زبان گنجشک منطقه آلوده و پاک به ترتیب ۷/۷۴ و ۱۲/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد.

میانگین کلسیم برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه



شکل ۳- تأثیر آلودگی هوا بر میزان یون فسفر (a)، کلسیم (b)، پتاسیم (c) برگ زبان گنجشک. خطوط خطا نشان دهنده خطای استاندارد (SE) است. حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۰/۰۱ بر اساس روش t-test است.

سطح فوقانی و تحتانی برگ زبان گنجشک شد (جدول ۴) آلودگی هوا بر تراکم روزنه سطح فوقانی برگ زبان گنجشک منطقه آلوده در مقایسه با منطقه پاک اختلاف معنی داری (سطح ۰/۰۵) را نشان نداد، در حالیکه تراکم روزنه سطح تحتانی برگ زبان گنجشک در منطقه آلوده به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۳). تراکم روزنه سطح تحتانی برگ زبان گنجشک منطقه آلوده در مقایسه با منطقه پاک ۱۳/۹۲ درصد کاهش نشان داد (جدول ۴).

میزان گشودگی روزنه در هر دو سطح برگ زبان گنجشک و همچنین طول سلول‌های نردبانی و قطر سلول‌های اسفنجی برگ منطقه آلوده در مقایسه با منطقه پاک اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۳).

#### بحث:

اثر آلودگی هوا بر کلروفیل: نتایج به دست آمده از مطالعات حاضر نشان داد میزان کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل برگ

سطح ۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۲). میانگین غلظت پتاسیم برگ زبان گنجشک منطقه آلوده ۴۰/۳۳ میلی گرم بر گرم و در گیاه مشابه از منطقه پاک ۱۲/۹۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک برگ محاسبه شد. میزان پتاسیم برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک ۳/۱۱ برابر افزایش داشت (نمودار ۳-۱).

نتایج آنالیز آماری داده‌ها نشان داد آلودگی هوا بر میزان عناصر سدیم و گوگرد و محتوای آب برگ زبان گنجشک تأثیر معنی داری در سطح ۰/۰۵ نداشته است (جدول ۲).

#### تأثیر آلودگی هوا بر آناتومی برگ زبان گنجشک: نتایج

نشان داد که آلودگی هوا بر تراکم کرک سطح فوقانی و تحتانی برگ زبان گنجشک تأثیر معنی داری در سطح ۰/۰۵ نداشته است (جدول ۳).

نتایج نشان داد اندازه کرک سطح فوقانی و تحتانی برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به گیاه مشابه از منطقه پاک اختلاف معنی داری را نشان داد (جدول ۳). آلودگی هوا باعث افزایش ۶۱/۴۰ و ۹۱/۷۵ درصدی اندازه کرک به ترتیب در

جدول ۳- آنالیز واریانس تأثیر آلودگی هوا بر تراکم و اندازه کرک، تراکم روزنه، میزان گشودگی روزنه، طول پارانشیم نردبانی و قطر پارانشیم اسفنجی سطح فوقانی (ad) و تحتانی (ab) برگ زبان گنجشک با روش t-test.

تراکم کرک (ad)	تراکم کرک (ab)	اندازه کرک (ad)	اندازه کرک (ab)	تراکم روزنه (ad)	تراکم روزنه (ab)	گشودگی روزنه (ad)	گشودگی روزنه (ab)	طول پارانشیم نردبانی	قطر پارانشیم اسفنجی
۱/۰۲ <sup>ns</sup>	۲/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>**</sup>	۰/۵۶ <sup>**</sup>	۱/۸ <sup>ns</sup>	۰/۴۵ <sup>*</sup>	۰/۱۸ <sup>**</sup>	۲/۹۷ <sup>ns</sup>	۱/۹۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup>: معنی دار نیست. \* : معنی دار در سطح ۰/۰۵ \*\* : معنی دار در سطح ۰/۰۱.

جدول ۴- مقایسه میانگین اندازه کرک بر حسب میکرون (μ)، تراکم روزنه بر حسب میلی متر مربع (mm<sup>2</sup>) سطح فوقانی (ad) و تحتانی (ab) برگ زبان گنجشک منطقه پاک و آلوده، داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده معنی دار بودن با استفاده از روش t-test است.

تراکم روزنه ab (mm <sup>2</sup> )	اندازه کرک ab (μ)	اندازه کرک ad بر حسب (μ)	منطقه پاک
۱۹۳/۴۰ <sup>b</sup> ± ۴/۴۴	۹۴/۱۵ <sup>b</sup> ± ۴/۲۱	۱۱۴/۰۹ <sup>b</sup> ± ۵/۹۳	منطقه پاک
۱۶۶/۴۸ <sup>a</sup> ± ۶/۵۸	۱۸۰/۵۳ <sup>a</sup> ± ۵/۵۲	۱۸۴/۱۲ <sup>a</sup> ± ۶/۳۴	منطقه آلوده

ایجاد می‌شوند، پاسخ‌های جبرانی زیستی به تنش‌های محیطی هستند و استراتژی جبرانی عمده در برابر تنش‌ها در گیاهان کم کردن آسیب‌های حاصل از تنش است (Woo et al., 2007). به همین دلیل تنش آلودگی هوا در بعضی از گیاهان به افزایش وزن تر و خشک برگ‌های آلوده و در نتیجه به افزایش کلروفیل منجر می‌شود (Seyyednejad et al., 2011). حفظ و افزایش کلروفیل گیاه در معرض آلودگی هوا می‌تواند نشانه تحمل و مقاومت گیاه نسبت به آلودگی هوا باشد (Singh and Verma, 2007). در برگ زبان گنجشک نیز افزایش میزان کلروفیل می‌تواند بیانگر این نکته باشد که گیاه از این طریق با تنش مقابله کرده و مانع کاهش فتوسنتز گیاه شده است.

**اثر آلودگی هوا بر میزان نشت یون، پراکسیداسیون لیپید، پرولین و پروتئین:** آلودگی هوا بر میزان نشت یون، پراکسیداسیون لیپید و پرولین برگ زبان گنجشک اثر معنی‌داری نشان نداد. در گیاهان حساس به علت نفوذ پذیری بالای غشاء سلولی میزان نشت یون‌ها آن‌ها بالاست. مطالعات Alves و Setter (۲۰۰۴) بر گیاه کاساوا نشان داد که غلظت یون پتاسیم در شرایط تنش خشکی در برگ افزایش یافته و سبب تعدیل

زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک افزایش معنی‌داری داشت. تحقیقات مشابهی نشان داد میزان کلروفیل *a* و *b* و کلروفیل کل گیاهان *Moltkiopsis*, *Tevatia neralfoia* و *ciliate* و *Zygophyllum album* در پاسخ به آلودگی هوا به طور معنی‌داری افزایش یافت (Ali and El-Yemeni, 2010). در منطقه آلوده برگ‌های گیاه *Eucalyptus camaldulensis* ۸/۳۹، ۸/۹۶ و ۸/۵۸ درصد افزایش را به ترتیب در کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل نشان داد (Seyyednejad and Koochak, 2011). در مطالعه‌ای که در مورد چندین گونه گیاهی تحت تنش آلودگی هوا انجام شد، گیاه *Prosopis juliflora* به عنوان حساس‌ترین گونه شناخته شد که میزان کلروفیل این گیاه در منطقه آلوده در مقایسه با منطقه کنترل کاهش یافت و در مورد گیاهان *Eucalyptus camaldulensis*, *Albizia lebbek* و *Callistemon salignus* کلروفیل، تحت تنش آلودگی هوا افزایش یافت (Seyyednejad et al., 2011). افزایش کلروفیل *a* و *b* و کل برگ‌های گیاهان در معرض آلودگی هوا، با تحریک فعالیت‌های فتوسنتزی مربوط است. بسیاری از تغییرات رشد و فیزیولوژی گیاهان از قبیل آن‌هایی که در نتیجه آلودگی هوا

شروع می‌شود که تنش آبی به حدی شدید باشد که مانع رشد گیاه و بسته شدن روزنه‌ها شود (قربانلی و همکاران ۱۳۸۶). بنابراین عدم تغییر پرولین، تعادل پتانسیل آبی گیاه و عدم تأثیر تنش را بر آن نشان می‌دهد.

در مطالعه حاضر میزان پروتئین برگ زبان گنجشک به طور معنی‌داری افزایش یافت. در تحقیق مشابهی میزان پروتئین گیاهان *Tevetia neralfoia* و *Heliotropium baceiferum* در مناطق آلوده نسبت به منطقه شاهد افزایش یافت (Ali and El-Yemeni, 2010). گیاهان می‌توانند اکسیدهای نیتروژن را در برگ‌ها با سنتز پروتئین و اسیدهای آمینه سم‌زدایی کنند، بنابراین افزایش پروتئین در گیاهان تحت تنش را به وجود دی‌اکسید گوگرد و اکسیدهای نیتروژن در آلاینده‌های هوا نسبت می‌دهند (Peretiemo-clarke and Achuba, 2007).

**اثر آلودگی هوا بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های (کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز):** مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک اختلاف معنی‌داری نشان نداد. اما میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ منطقه آلوده نسبت به گیاه مشابه از منطقه پاک به طور معنی‌داری افزایش یافت. در تحقیقی مشابه فعالیت گایاکول پراکسیداز در کاج نول (*Picea abies L.*) تحت تنش کادمیوم ابتدا یک افزایش ابتدایی را نشان داد و تیمار غلظت‌های بالاتر کادمیوم باعث کاهش فعالیت این آنزیم گردید (Radotic et al., 2000). دیده شده که فعالیت گایاکول پراکسیداز در توت (*Morus alba L.*) تحت تنش آلاینده‌های فلئورایدی افزایش نشان می‌دهد (Anil Kumar. et al. 2009). تعادل بین پالایش ROSها و تولید آن‌ها توسط تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند خشکی، فلزات سنگین، تغییرات دمایی، تشعشعات فرابنفش، کمبود موادغذایی، آلودگی هوا، پاتوژن‌ها و آفت‌کش‌ها بهم می‌خورد که باعث افزایش ناگهانی سطح درون سلولی ROS می‌شود و می‌تواند عامل اصلی آسیب به ساختار سلولی باشد. همچنین ROS در بیان تعدادی از ژن‌ها اثر می‌گذارد و به این شکل فرایندهای زیادی مانند رشد، مرگ

اسمزی می‌گردد که مطابق با نتایج موجود در زبان گنجشک است. نشأت یون‌ها از دیواره سلول مربوط به فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده سلولی می‌باشد. در برگ زبان گنجشک میزان نشأت یون تغییر معنی‌داری نداشته پس به غشای سلول آسیبی وارد نشده است.

نتایج حاصل از بررسی میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در برگ زبان گنجشک منطقه آلوده در مقایسه با منطقه پاک اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در نتایج مشابهی، میزان پراکسیداسیون غشا برگ نو و اسطوخودوس منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک در فصل پاییز تغییر معنی‌داری از نظر آماری نداشت (قربانلی و همکاران ۱۳۸۸). بررسی دیگری نشان داد محتوای مالون‌دی‌آلدئید برخی گونه‌های گیاهی از قبیل گونه‌های حساس برنج با افزایش شوری افزایش یافت. تنش شوری هیچ گونه تغییر معنی‌داری را در محتوای مالون دی‌آلدئید ریشه‌های گونه هالوفیت *Crithmum maritimum* القاء نکرده که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی مقاوم بودن گیاه در برابر تنش باشد (Ben Amor, 2005). تنش‌ها با ایجاد تغییر در اسیدهای چرب غیراشباع بر ساختار و ویژگی‌های غشای سلولی اثر گذاشته و موجب ایجاد رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی که نتیجه اثرات رادیکال‌های آزاد هستند نشان دهنده آسیب تنش در سطح سلولی می‌باشد بنابراین محتوای مالون‌دی‌آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، بیش‌تر به عنوان یک شاخص برای تنش اکسیداتیو بکار می‌رود (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۸). عدم تغییر معنی‌دار مالون دی‌آلدئید می‌تواند در گیاه مورد مطالعه نشان دهنده عدم آسیب در غشای سلول گیاه و مقاومت آن در برابر آلاینده‌ها باشد.

در تحقیق حاضر آلودگی هوا تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین برگ گیاه نداشت. در مطالعه مشابهی تغییرات میزان پرولین تحت تنش آلودگی هوا در خرزهره معنی‌دار نبود. تجمع پرولین هنگامی صورت می‌گیرد که پتانسیل آبی برگ به زیر حد آستانه لازم رسیده باشد. تجمع پرولین عموماً وقتی



اتصال با کلسیم رقابت می‌کند و مانع جذب کلسیم از ریشه گیاه می‌شود (جعفری، ۱۳۸۷). اسیدیته بالای خاک در مناطق صنعتی با شسته شدن شدید عناصری مانند کلسیم از برگ‌های گیاهان مرتبط است.

میزان یون پتاسیم برگ زبان گنجشک منطقه آلوده در مقایسه با منطقه پاک افزایش معنی داری نشان داد. در مطالعه Shukry و همکاران (۲۰۱۳) یون کلسیم در بخش هوایی جوجوبا (*Simmondsia chinensis*) در خاک آلوده به نفت خام کاهش یافت، در حالی که یون پتاسیم افزایش یافته بود. در تحقیقی میزان پتاسیم گیاه *Acacia saligna* تحت تنش شوری افزایش یافت (Soliman et al., 2012)، که مطابق با نتایج حاصل در تحقیق حاضر در برگ زبان گنجشک است. پتاسیم برای سنتز و انتقال مواد مغذی در گیاه لازم بوده و در رفع آثار سوء عدم تعادل بعضی از عناصر غذایی گیاه در خاک کمک می‌کند و همچنین در تنظیم جذب آب مؤثر می‌باشد. پتاسیم، به عنوان یک کوآنزیم فعال در بسیاری از فرآیندهای مهم متابولیسمی در گیاهان که برای حمل و نقل در آوند آبکش، تعادل اسمزی و فتوسنتز مهم است نقش دارد (راهداری، ۱۳۹۰). افزایش پتاسیم سازوکاری برای تعادل و جبران کمبود بعضی عناصر از جمله کلسیم و تعادل آب در گیاه می‌باشد و در افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش مؤثر است.

در تحقیق حاضر میزان عناصر سدیم و گوگرد منطقه آلوده در مقایسه با منطقه شاهد تغییر معنی‌داری نشان نداد. از جمله عناصری که هنگام اعمال تنش‌های محیطی در گیاهان تجمع پیدا می‌کند یون سدیم است که می‌تواند منجر به در هم گسیختگی تمامیت غشایی و مهار انتقال یون‌های غذایی از ریشه به اندام‌های هوایی گردد (راهداری، ۱۳۹۰). بنابر این عدم تغییر سدیم گیاه نشانه‌ای از تحمل گیاه در برابر جذب این عنصر است تا تعادل عناصر در گیاه بهم نخورد. گوگرد یکی از عناصر ضروری برای گیاه است و  $SO_2$  هوا یکی از منابع گوگرد به شمار می‌رود (Varin et al., 2010). مقدار زیاد  $SO_2$  در هوا می‌تواند باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن شود که برای سیستم‌های غشایی و ماکرومولکول‌های

سلولی برنامه‌ریزی شده، پاسخ به تنش‌های غیرزیستی، دفاع در برابر پاتوژن‌ها، مسیرهای سیگنالی عمومی و نمو را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Gill and Tuteja, 2010). گایاگول پراکسیداز، ایندول ۳ استیک اسید (IAA) را تجزیه می‌کند و نقش مهمی در دفاع مقابل تنش‌ها، با مصرف  $H_2O_2$  در سیتوزول، واکوئل، دیواره سلولی و همچنین در فضای خارج سلولی دارد (Karuppanapandian et al., 2011). افزایش گایاکول پراکسیداز در زبان گنجشک یک مکانیسم برای مقابله با رادیکال‌های آزاد تولید شده حاصل از تنش و جلوگیری از آسیب آن‌ها به ماکرومولکول‌های سلولی می‌باشد.

**اثر آلودگی هوا بر میزان عناصر (فسفر، کلسیم، پتاسیم، سدیم و گوگرد) و محتوای آب برگ:** فسفر از جمله عناصر کلیدی گیاه است که در نقل و انتقال انرژی در فرآیندهای متابولیسمی گیاه، تقسیم سلولی، ساختمان فسفولیپیدها، توسعه قسمت‌های زایشی گیاه، رشد و تکامل ریشه‌های فرعی و مویی و همچنین در تشکیل و انتقال موادی همانند قندها و نشاسته در گیاه شرکت دارد (Marschner, 2002). در بررسی حاضر میزان فسفر برگ زبان گنجشک منطقه آلوده نسبت به منطقه پاک افزایش نشان داد. در بیشتر گونه‌های گیاهی مطالعه شده مانند *Carpinus betulus* و *Ailanthus glandulosa* برگ‌های گیاهان منطقه با آلودگی هوا مقدار بیشتری از فسفر را در بافت‌های خود انباشته کردند. اسیدیته بالای خاک مناطق صنعتی برای در دسترس بودن فسفر مناسب است. این عنصر به خوبی قابل تبادل و انتقال است و غلظت برگ آن مرتبط با فعالیت فیزیولوژیک بالا در شروع دوره رشد است. انباشتگی فسفر برگ‌های گیاهان آلوده با مصرف انرژی بیشتر برای فرآیندهای سازوکاری مرتبط است چرا که در گونه‌های مقاوم به آلودگی هوا میزان تنفس بالاتری مشاهده شده است. (Tzvetkova and Kolarov, 1996).

در این تحقیق میزان کلسیم برگ زبان گنجشک منطقه آلوده کاهش یافت. در مطالعه‌ای مشابه، جذب فلئوئوراید ناشی از آلاینده‌های فلئوئورایدی در گیاه برنج *Oryza sativa L.* مورد بررسی قرار گرفت و به این نتیجه رسیدند که فلئوئوراید در

بیولوژیکی سمی هستند (Liu et al., 2006).

محتوای آب برگ گیاهان منطقه آلوده نسبت به گیاهان مشابه از منطقه پاک اختلاف معنی‌داری نشان نداد. یکی از سازوکارهای گیاهان برای حفظ و بقاء در شرایط تنش، حفظ و نگهداری مقدار آب بافت گیاهی است. در خاک‌های آلوده به نفت خام نسبت وزن خشک به وزن تر بخش هوایی چاودار (*Scale montanum*) و پوآ (*Poa paratensis*) با افزایش آلودگی افزایش داشته (یعنی مقدار آب درون بافتی در گونه‌های حساس کاهش یافته است) ولی در فستوکا (*Festuca arundinacea L*) به عنوان یک گیاه مقاوم، با افزایش آلودگی، آب درون بافتی تغییری نداشته است (Huang et al., 2004). عدم تغییر محتوای آب زبان گنجشک عدم تأثیر آلودگی هوا و مقاومت گیاه را نشان می‌دهد.

**اثر آلودگی هوا بر آناتومی برگ:** آلودگی هوا باعث افزایش اندازه کرک در هر دو سطح برگ زبان گنجشک شد. در گیاه *Tithonia diversifolia* منطقه آلوده، اندازه کرک افزایش بیشتری نسبت به اندازه کرک در گیاهان قرار گرفته در مناطق غیرآلوده داشتند (Duldulao and Gomez, 2008). در مطالعه دیگری نیز تحت تأثیر آلودگی هوای شهر تهران، اندازه کرک برگ اقاویا افزایش معنی‌داری نشان داد (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۶)، که شبیه نتایج حاصل از اندازه کرک برگ زبان گنجشک در تحقیق حاضر می‌باشد. افزایش اندازه کرک سازوکاری برای کاهش تماس و ورود آلاینده‌ها از سطح برگ و روزنه می‌باشد. تغییر تراکم روزنه به عنوان یک واکنش به تنش‌های محیطی و یک شیوه مهم برای کنترل جذب آلاینده‌هاست (Verma et al., 2005).

در تحقیق حاضر تراکم روزنه سطح تحتانی برگ زبان گنجشک کاهش معنی‌داری نشان داد. در بررسی مشابهی تراکم

## منابع:

روزنه‌های سطح تحتانی برگ اقاویا تحت تأثیر آلودگی هوا کاهش یافت (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۶). تراکم روزنه راهی برای جلوگیری از افزایش ورود آلاینده‌ها به برگ است. نتایج حاصل از تحقیق حاضر تغییر معنی‌داری در گشودگی دهانه روزنه نشان نداد. بسته شدن روزنه‌ها در گیاهان حساس صورت می‌پذیرد (Suganthi et al., 2013). بنابراین عدم تغییر معنی‌دار دهانه روزنه در گیاه مورد مطالعه نشان‌دهنده حساسیت کم این گیاه به آلاینده‌های هوای این منطقه است.

## نتیجه‌گیری کلی:

افزایش شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند افزایش کلروفیل، پروتئین، عناصر فسفر و پتاسیم و گایاکول پراکسیداز، پاسخ گیاه برای افزایش مقاومت در برابر آلاینده‌های هوا را نشان می‌دهد همچنین عدم تغییر پارامترهایی مانند نشت یون، مالون‌دی‌آلدئید و محتوای آب عدم تأثیر آلاینده‌ها را بر این شاخص‌ها و عدم آسیب‌پذیری زبان گنجشک را نشان می‌دهد. در تغییرات آناتومیکی نیز افزایش اندازه کرک و کاهش تراکم روزنه راهی برای کاهش نفوذ آلاینده‌ها به درون برگ است. عدم تغییر طول پارانشیم نردبانی و قطر پارانشیم اسفنجی عدم آسیب‌پذیری برگ‌های زبان گنجشک را در برابر آلاینده‌های این منطقه نشان می‌دهد بنابراین می‌توان از کاشت این گیاه برای مناطق آلوده مشابه استفاده کرد. همچنین کاشت این گیاه برای ایجاد فضاهای سبز در شهر صنعتی اراک پیشنهاد می‌شود.

## تشکر و قدردانی:

از حوزه معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک که حمایت مالی این تحقیق را به عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

جعفری، م. (۱۳۸۷) بررسی فلور محدوده کارخانه آلومینیم ایران در شهر اراک و اثر آلودگی هوا ناشی از انتشار فلوراید بر برخی از خصوصیات گیاهان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی، همدان، ایران.

جعفری، م.، نوری، م.، عشقی ملایری، ب. (۱۳۹۰) بررسی اثرات فلوراید بر رستنی‌های کارخانه آلومینیم ایران با تکیه بر انباشت آن

در یونجه (*Medicago sativa* L.). فصلنامه یافته‌های زیست‌شناسی ۷: ۱-۹.

درویش صفت، ع. ا. (۱۳۸۵) اطلس مناطق حفاظت شده ایران. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

راه‌داری، پ. (۱۳۹۰) بررسی اثر کمبود عناصر معدنی (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم و کلسیم) بر میزان وزن خشک، وزن تر، طول ریشه، اندام هوایی و میزان آب نسبی برگ در گیاه شنبلیله (*Trigonella foenumgraecum*). اکوسیستم‌های طبیعی ایران ۱۰-۱: ۱. قربانلی، م.، بخشی‌خانیک، غ. و باکند، ز. (۱۳۸۶) بررسی اثر آلاینده‌های هوای شهر تهران بر وزن تر و خشک، غلظت پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، تعداد روزنه، کرک و سلول‌های اپیدرمی در دو گیاه خرزهره و افاقیا، پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی ۳۴-۲۸: ۷۷.

قربانلی، م.، منفرد، ا.، بخشی‌خانیک، غ. و یزدانی، ک. (۱۳۸۸) تأثیر آلودگی هوا بر روی پراکسیداسیون غشا و فعالیت آنزیمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) در اسطوخودوس و برگ نو در تهران، فصلنامه علمی پژوهشی و زیست بوم ۷۰-۵۹: ۱۹.

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 Sciences 4: 1251-1263.

Alves, A. C. and Setter, T. L. (2004) Abscis acid accumulation and osmotic adjustm in *cassava* under water deficit. Environmental and Experimental Botany 51: 259-271.

Anil Kumar, K., Varaprasad, P. and Vijaya Bhaskara Roa, A. (2009) Effect of Fluoride on Catalase, Guaiacol Peroxidase and Ascorbate Oxidase Activities in Two Verities of Mulberry Leaves (*Morus alba* L.). Journal of Earth Sciences 1: 69-73.

Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24:1-15.

Assadi, A., Ghasemi-Pirpalouti, A., Malekpoor, F., Teimori, N. and Assadi, L. (2011) Impact of air pollution on physiological and morphological characteristics of *Eucalyptus camaldulensis* Den. Journal of Food, Agriculture and Environment 9: 676-679.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39:205-207.

Bao, S.D. (1981) Determination of cation. In: Analytic Methods for Soil and Agriculture Chemistry (Ed. Bao, S. D.) Pp. 150-160. China Agriculture Press, Beijing

Ben-Amor, N. Ben-Hamed, K., Debez, A. Grignon, C. and Abdelly, C. (2005) Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. Plant Science 168: 889-899.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 74: 248-254.

Cakmak, I. and Marschner, H. (1992) Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbat peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. Plant Physiology 98: 1222-1227.

Catsky, J. (1960) Determination of water deficit in disks cut out from leaf blades. Biologia Plantarum 2: 76-78.

Dionisio-Sese, M. L. and Tobita, S. (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. Plant Science 135:1-9.

Duldulao, M. C. G. and Gomez, R. A. (2008) Effects of vehicular emission on morphological characteristics of young and mature leaves of sunflower (*Tithonia diversifolia*) and napier grass (*Pennisetum purpureum*). BSU Graduate School Research Journal 85: 142-151.

Elkahoui, S., Hernandez, J. E. A., Abdelly, C., Ghrir, R. and Liman, F. (2005) Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Cathanthus roseus* suspension cells. Plant Science 168: 607-613.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Gostin I. N. (2009) Air pollution effects on the leaf structure of some Fabaceae species. Botanical Horticulture Agronomy 37: 57-63.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics 125:189-198.

Higjano, C. F., Dom-inguez, M. D. P., Gimenez, R. G., Sanchez, P. H. and Garcia, I. S. (2005) Higher plants as biolindicators of sulphur dioxide emissions in urban environments. Environmental Monitoring and Assessment 111: 75-88.

- Huang, X. D., El-Alawi. Y., Penrose, D. M., Glick, B. R. and Greenberg, B. M. (2004) A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil. *Environmental Pollution* 130: 465-476.
- Joshi, P. C. and Swami, A. (2009) Air pollution induced changes in the photosynthetic pigments of selected plant species. *Journal of Environmental Biology* 30: 295-298.
- Karuppanapandian, T., Moon, J. H., Kim, C., Manoharan, K., Kim, W. (2011) Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction and scavenging mechanisms, *Australian Journal of Crop Science* 5: 709-725.
- Kiernan, J. A. (1999) *Histological and histochemical methods: theory and practice*. 3<sup>th</sup>Ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann.
- Kohler, J., Caravaca, F. and Roldan, A. (2007) Interactions between a plant growth promoting *rhizobacterium*, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of *Lactuca sativa*. *Applied Soil Ecology* 35: 480-487.
- Lillie, R. D. (1965) *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3<sup>th</sup>Ed. new York: The Blakiston company.
- Liu, N. P., Chang-Lian., Lin, Zhi-Fang., Lin, Gui-Zhu., Zhang, Ling-Ling and Pan, Xiao-Ping. (2006) Changes in photosystem II activity and leaf reflectance features of several subtropical woody plants under simulated SO<sub>2</sub> treatment. *Integrative Plant Biology* 48: 1274-1286.
- Meerabai G; Venkata-RamanaC, Rasheed M. (2012) Effect of air pollutants on leaves of *pigeon pea*, a pulse crop of Fabaceae growing in the vicinity of a silicon Industry. *World Rural Observation* 4: 19-21.
- Muneer, S., Kim, T. H., Choi, B. C., Lee, B. S. (2013) Effect of CO, NO<sub>x</sub> and SO<sub>2</sub> on ROS production, photosynthesis and ascorbate–glutathione pathway to induce *Fragaria annasa* as a hyperaccumulator. *Redox Biology* 2: 91–98.
- Noori M. (2002) Characterization of the Iranian species of *Shophorea* and *Ammodendron* (Leguminosea: Sphorea). Phd thesis, University of London and Royal Botanic Garden, Kew, UK.
- Omosun G, Markson A. A. A., Mbanasor O. (2008) Growth and anatomy of *Amaranthus hybridus* affected by different crude oil concentrations. *American-Eurasian Journal of Science Research* 3: 70-74.
- 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.
- Polle, A., Otter, T. and Seifert, F. (1994). Apoplastic peroxidase and lignification in needles of Norway spruce (*Picea Abies* L.). *Plant Physiology* 106:53-56.
- Radotic, K., Ducic, T. and Mutavdzic, D. (2000) Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium. *Environmental and Experimental Botany* 44: 105-113.
- Rai, R., Rajput, M. and Agrawal, M. (2011) Gaseous air pollutants: a review on current and future trends of emission and impact on agriculture. *Journal of Scientific Research* 55: 77-102.
- Seyyednejad, S. M. and Koochak, H. (2011) A Study on air pollution-induced biochemical alteration in *Eucalyptus camaldulensis*. *Australian Journal of Basic Sciences* 5: 601-606.
- Seyyednejad, S. M., Niknejad, M. and Koochak, H. (2011) A review of some different effects of air pollution on plants. *Research Journal of Environmental Sciences* 5: 302-309.
- Shukry, W. M., Al- Hawas, G. H. S., Al-Moaikal, R. M. S. and El-Bendary, M. A. (2013) Effect of petroleum crude oil on mineral nutrient elements, soil properties and bacterial biomass of the rhizosphere of *Jojoba*. *British Journal of Environment and Climate Change* 3: 103-118.
- Singh, S. N. and Verma, A. (2007) Phytoremediation of air pollutants: A review . In: *Environmental Bioremediation Technology* 293-314.
- Solliman, A. Sh., Shnan, N. T., Massoud, O. N. and Swelim, D. M. (2012) Improving salinity tolerance of *Acacia saligna* (Labill). Plant by arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* inoculation. *African Journal of Biotechnology* 11: 1259-1266.
- Suganthi, P., Ganeshkumar, R. S., Govindaraju, M., Selvaraj, M. (2013) Estimation of biochemical characters of plants in response to vehicular air pollution stress in *Tiruchirap pallicity* corporation, tamilnadu, India. *International Journal of Recent Science and Research* 4:1282- 1289.
- Tzvetkova, N. and Kolarovo, D. (1996) Effect of air pollution on carbohydrate and nutrient concentration in some deciduous tree species. *Bulgaria Journal Plant Physiology* 22: 53-63.
- Vallero, D.A (2008) *Fundamentals of Air Pollution*. 4<sup>th</sup> edition, Elsevier, USA.
- Varin, S., Cliquet, J. B., Personneni, E., Avice, J. C. and Lemauviel-Lavenant, S. (2010) How dose sulphur availability modify N acquisition of clover (*Trifolium repens* L.) *Journal of Experimental Botany* 61: 225-234.
- Verma R. B., Mahmooduzzafar T. O., Siddiqi M., Iqbal, T. (2006) Foliar Response of *Ipomeapes-tigridis* L. to Coal-Smoke Pollution. *Turkish Journal of Botany* 30:413-417.
- Wang, B. S. and Zaho, K. F. (1995) Comparison of extractive methods of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> in wheat leaves. *Plant Physiology Communications* 31: 50-52.
- Woo, S., Lee, D. and Lee, Y. (2007) Net photosynthetic rate, ascorbat peroxidase and glutathion reductase activities of *Erythrina orientalis* in polluted and non-polluted areas. *Potosynthetic* 45: 293-295.

## Effects of air pollutants on the physiology and anatomy of *Fraxinus excelsior* leaves within the Iran's Aluminum plant in Arak city

Amini Fariba\*, Fattah Ravandi Nafiseh and Askari Mehri

Biology Department, Faculty of Science, Arak University, Arak 38156-8-8349, Iran

(Received: 11 April 2015, Accepted: 30 December 2015)

### Abstract:

Urban pollution is a major environmental concern, especially in large cities of developing countries. Markazy province is one of the industrial provinces of the country that has the highest air pollution due to Industrial structures. Study of structural and functional responses of *Fraxinus excelsior* to air pollutants was the objective of this research. Using data from the Environmental Protection Agency, aluminum plant limits as polluted area and HAFTAD GHOLLEH area at a distance of 35 km of Arak as Clean area were selected and leaf samples of plants were harvested in both areas simultaneously and some of physiology and anatomy parameters were studied. The results showed that the rate of chlorophyll, protein, activity of Guaiacol peroxidase, phosphorus and potassium elements, increased significantly at the polluted area but the rate of ion leakage, membrane lipid of proxidation Catalas, Super oxide Dismutase, and water content (5% level) showed significant increase. Density of trichome in upper and lower leaf surface, stomatal openness, the length of palisade cells parenchyma, and thickness of Sponge parenchyma didn't show significant change. But the size of trichome in both sides of leaf surface, increased significantly. The results showed that the changes of plant parameters, increased plant resistance against air pollution in the region. Therefore, the cultivation of this plant can be used for the same polluted green space areas.

**Keywords:** Air pollution, Antioxidants, Chlorophyll, Elements, Leaf structure.

\*corresponding author, Email: f-amini@araku.ac.ir