تأثیر باران اسیدی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی افرای پلت (*Acer velutinum Boiss*)

وهب جعفریان*[۱]، مهدی صالحی[۲] و رضا فتوحی قزوینی[۲]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، [۲]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۱۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۲/۰۵)

چکیده:

باران اسیدی ناشی از فعالیت‌های صنعتی یکی از تنش‌های جدی است که وقوع آن در اغلب مناطق ایران در سال‌های آینده محتمل است. به‌منظور درک بهتر اثر این تنش بر غشاء سلول، کلروفیل، تولید رادیکال‌های اکسیژن و تاثیری که بر گیاهان دارد بطور موردی، رفتار درخت زینتی-صنعتی افرای پلت در برابر این آلاینده هوا مورد مطالعه قرار گرفت. از این‌رو، نهال‌های این درخت در معرض باران اسیدی شبیه‌سازی‌شده در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار سطح pH: ۳، ٤، ٥، و ٦ به‌عنوان شاهد، و در سه تکرار به‌مدت ده روز، قرار گرفتند. در پایان آزمایش، برخی تغییرهای ظاهری از قبیل لکه‌های بافت‌مرده و خمیدگی حاشیه برگ تنها در گیاهان مواجه‌شده با باران اسیدی دارای pH = ۳ مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش اسیدیته باران اسیدی میزان نشت یونی (EL) و پراکسیداسیون لیپید (LPO) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان کلروفیل کل در برگ‌ها در مواجهه با باران اسیدی دارای pH = ۳ به‌طور چشمگیری کاهش یافت. این تغییرات حاکی از آسیب غشاء سلول و کاهش سطح فتوسنتز بود. بنابر نتایج به‌دست‌آمده، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) تحت تأثیر باران اسیدی قرار نگرفت، در حالی‌که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (POD) و آسکوربات‌پراکسیداز (APX) در گیاهان مواجه‌شده با باران اسیدی دارای pH = ۳ به‌طور چشمگیری کاهش یافت. کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مصادف با بروز آسیب بود. به عبارت دیگر افرای پلت در برابر باران اسیدی تا pH = ٤ بدلیل افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها مقاوم بوده ولی در برابر باران اسیدی دارای pH = ۳ و بی‌تردید pHهای پایین‌تر، به دلیل افزایش رادیکال‌ها، کاهش فتوسنتز و پراکسیده شدن غشاء آسیب مشهود شد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی هوا، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، افرا، تنش باران اسیدی، لیپید پراکسیداسیون.

مقدمه:

باران‌های اسیدی به‌وجودآمده به‌واسطه فعالیت‌های دست-ساخت بشری (anthropogenic activities) یکی از مهمترین انواع آلاینده‌های ثانویه هوا به‌شمار می‌آیند. وجود جریانات جوی و بادها می‌توانند آلاینده‌های هوا را تا مناطقی دورتر از خواستگاهشان انتقال دهد و باعث ایجاد بحران در آن مناطق گردد (Bouwman *et al.*, 2002; Prihatin *et al.*, 2015). امروزه به بارشی با pH کمتر از ٥/٦ باران اسیدی می‌گویند. بارش اسیدی بیشتر در نتیجه‌ی حل‌شدن دی‌اکسیدگوگرد (SO_2) و اکسیدهای نیتروژن (NOX) با بخار آب موجود در اتمسفر است (Kita *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2001). این گازهای سمی بیشتر در مناطق صنعتی تولید می‌شوند و بسته به غلظت با نسبت‌های مختلفی همراه با دیگر ترکیبات در باران اسیدی وجود دارند (Wu and Han, 2015).

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: v.jafarian@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]

باران اسیدی با اسیدی کردن آب رودخانه‌ها و دریاچه‌ها شرایط زندگی آبزیان را به خطر می‌اندازد (Botkin and Keller, 2003)، همچنین باعث آسیب به بناهای تاریخی می‌گردد (Bear, 1964). باران اسیدی با کم کردن pH خاک باعث آزادسازی عناصر سمی مانند آلومینیوم گردیده و نیز فعالیت آن دسته از ریزاندام‌واره‌های مفید خاک که در دامنه‌های بالای pH فعالند را کاهش می‌دهد و در نتیجه از حاصلخیزی خاک می کاهد (King *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007). باران‌های اسیدی به‌طور مستقیم در مواجه با برگ‌های گیاهان بر آنان اثر گذاشته و سبب کاهش سرعت رشد (Silva *et al.*, 2005) و در pH های پایین‌تر حتی منجر به ریزش نابهنگام، پیری و مرگ گیاه می‌شود. مقدار زی‌توده بخش بالای سطح زمین و بخش زیرزمینی گندم تحت باران اسیدی کاهش یافتند (Singh *et al.*, 2007). باران اسیدی همچنین بر روی اندام‌های تولید مثل گیاهی اثر دارد. در بررسی‌های Bellani و همکاران (۱۹۹۷) بر روی اثرات باران اسیدی بر دانه گرده سیب مشاهده شد که باران اسیدی به‌طور چشمگیری باعث کاهش زیوایی و جوانه-زنی دانه گرده می‌گردد. همچنین مشخص شده است که باران اسیدی بر فراساختارهای کلروپلاست اثر می‌گذارد و میزان فتوسنتز خالص را بسیار تحت تأثیر قرار می‌دهد (Wen *et al.*, 2011). کاهش میزان pH باران اسیدی بر میزان کلروفیل برگ گیاهان نیز تأثیر بسزایی دارد (Wyrwicka and Skłodowska, 2006). بنابر پژوهش‌های Velikova و همکاران (۲۰۰۰) باران اسیدی بر تخریب غشای یاخته‌ها اثرات قابل توجه‌ای می گذارد. تولید انواع گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن یا ROS (Reactive Oxygen Species) یک رخداد اولیه تحت شرایط مختلف تنش است (Noctor and Foyer, 1998). ROS ها در گیاه تحت تنش باران اسیدی در برگ‌ها به وجود می‌آیند (Wang *et al.*, 2014). تنش اکسیداتیو در پاسخ به تنش باران اسیدی در گیاهان در نتیجه تولید انواع ROS نیز ایجاد می‌شود (Gabara *et al.*, 2003). اکسیژن فعال تولیدشده تحت تنش، عامل اصلی پراکسیداسیون لیپیدها، غیرفعال کردن آنزیم‌ها و آسیب‌های اکسیداتیو به DNA است (Athar *et al.*, 2008). با این حال، در برخی گیاهان بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به-خاطر آلودگی هوا توسط Kubo و همکاران (۱۹۹۵) گزارش گردیده است.

افرای پلت (*Acer velutinum* Boiss.) درختی با شاخساره های بزرگ و بومی جنگل‌های شمال ایران است، نورپسند بوده و در بوستان‌ها و فضاهای سبز شهری و در صنعت چوب مورد استفاده قرار می‌گیرد (Wiersema and Blanca, 1999). از آنجا که پژوهش‌های ناچیزی درباره‌ی اثر آلاینده‌های هوا بر درختان بومی ایران صورت پذیرفته و اطلاعات کمی در زمینه اثرهای فیزیولوژی و بیوشیمیایی باران اسیدی بر گیاهان در دسترس است، و همچنین از آنجا که گونه‌های پهن‌برگ نسبت به گونه های باریک‌برگ در برابر باران اسیدی حساس‌تر هستند (Wyrwicka and Skłodowska, 2006)، گیاه افرای پلت که در ایجاد فضای سبز با نقش سایه انداز کاربرد دارد و از طرفی دارای ویژگی‌های زیباشناختی شکل برگ و میوه و نیز دارای رشد سریع است، انتخاب گردید تا تاثیر تیمارهای مختلف باران اسیدی روی گیاه مورد مطالعه قرار گیرد. بنابراین، تعدادی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پس از اعمال تیمارها اندازه گیری شد تا شدت آسیب باران اسیدی و مقاومت گیاه مشخص گردد.

مواد و روش‌ها:

مواد گیاهی: برای انجام این آزمایش از نهال‌های سه ساله‌ی افرا استفاده شد. نهال‌ها به‌صورت هم اندازه به گلدان‌های پلاستیکی بزرگ (۷۰ سانتی‌متر درازا، ٤٠ سانتی‌متر پهنای دهانه) حاوی ماسه و کود دامی کاملا پوسیده به نسبت حجمی ۲:۱ که در ته آن‌ها چهار عدد سوراخ برای زه‌آب ایجاد شده بود، انتقال داده شدند. جهت سازگاری، استقرار نهال‌ها و رشد بعدی، به مدت یک ماه با محلول هوگلند هر سه روز یکبار و سپس به‌طور میانگین هر پنج روز آبیاری شدند. این آزمایش در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان (رطوبت ۷۵ درصد، بیشینه و کمینه دما به ترتیب ۲٦ و ١٦ درجه سانتی‌گراد) انجام پذیرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]

جدول ۱- ترکیب باران اسیدی (Seufert *et al.*, 1990)

ترکیب شیمیایی	NH_4NO_3	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	Na_2SO_4	$KHCO_3$	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$
مقدار (گرم در لیتر)	۱/۳	۳/۱	۲/۵	۱/۳	۳/۱

شیوه اعمال تیمارها: یک ماه پس از استقرار در گلدان، نهال‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی در معرض چهار سطح باران اسیدی (pH های ۳، ٤، ۵، و ٦ به‌عنوان شاهد) که طبق روش Seufert و همکاران (۱۹۹۰) فراهم شده بود (جدول ۱)، قرار گرفتند. باران اسیدی به‌صورت محلول‌پاشی روزانه و به مدت ۱۰ روز انجام گرفت. در این تیمار از توپین ۸۰ به عنوان سورفکتانت استفاده گردید. نمونه‌های برگی ۲٤ ساعت پس از آخرین محلول‌پاشی، از بخش‌های گوناگون گیاه، معمولاً از برگ‌های گره‌های دوم، سوم و چهارم مانده به جوانه انتهایی که فعالیت فیزیولوژیکی بالایی دارند، گرفته و بی‌درنگ به آزمایشگاه برده شدند تا میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز، میزان پراکسیداسیون لیپید، کلروفیل کل و نشت یونی در آن‌ها اندازه گیری شوند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی: به منظور استخراج و اندازه گیری آنزیم، برگ‌های تازه از گیاه جدا و در هاون چینی با نیتروژن مایع کاملاً هموژنیزه شدند. میزان ۰/۱ گرم از برگ منجمد شده با نیتروژن مایع با یک میلی‌لیتر از بافر استخراج (بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با pH = ۷ که حاوی mM EDTA ۰/۱ و w/v PVPP ٪۲) به مدت ۱۵ دقیقه با ۱٤۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس، سانتریفوژ شدند. از بخش رویی (سوپرناتانت) برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، پراکسیداسیون لیپیدها و تعیین غلظت پروتئین کل (نتایج نشان داده نشده) استفاده شد (De Azevedo *et al.*, 2006).

تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: فعالیت کل آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با اندازه‌گیری توانایی‌اش در جلوگیری از کاهش فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) تعیین شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) در مخلوط واکنش به حجم ۱/۵ میلی‌لیتر و دارای بافرفسفات (۵۰ میلی مولار pH = ۷/۸)، mM EDTA ۰/۱، متیونین ۱۳mM، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) µM ۷۵، ریبوفلاوین µM۲ و ۵۰ میکرولیتر عصاره خام آنزیمی انجام گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٦۰ نانومتر انجام گردید. یک واحد (1U) از SOD به مقداری از آنزیم گفته می‌شود که سبب ۵۰٪ مهار احیای NBT به فرمازان تحت شرایط یاد شده شود. تفاوت بین جذب هر عصاره در مدت زمان روشنایی ۱٦ دقیقه و جذب عصاره بدون آنزیم (کنترل) در همان زمان روشنایی در واقع نشان دهنده بازداشت واکنش خودبخودی و تشکیل فرمازان توسط SOD است (Giannopolitis and Ries, 1977).

برای تعیین فعالیت مخصوص آنزیم SOD گیاهی بر حسب Unit/mg protein از فرمول زیر استفاده می‌شود:

$$\text{Units / mg:} \quad \frac{\dfrac{\text{OD560 Control} - \text{OD560 Sample}}{\text{½ OD560 Control}}}{\text{mg Protein / ml Reaction Mix}}$$

روش سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز: برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ابتدا بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، EDTA یک میلی مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار و پراکسید هیدروژن یک میلی مولار تهیه شد. سپس سنجش توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در کووت‌های کوارتز در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام شد (Nakano and Asada, 1981). اگر تغییرهای جذب علیه زمان (OD/min) به ثابت $۲/۸mM^{-1}cm^{-1}$ تقسیم شود فعالیت آنزیمی به‌دست می‌آید. برای تعیین فعالیت مخصوص آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاهی از فرمول زیر استفاده می‌شود که فعالیت مخصوص برحسب Unit/mg protein به دست می‌آید، که یک واحد آنزیمی معادل تجزیه یک میکرومول آسکوربات در مدت زمان یک دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]

$$\text{Units / mg} = \frac{\text{OD 290 / min}}{2.8 \times \text{mg protein / ml reaction Mix}}$$

روش سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت پراکسیداز به روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. محلول بافری واکنش شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر KH_2PO_4 (pH = ۷)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۱ میلی‌مولار H_2O_2، و ۱۰ میلی‌مولار گایاکول بود. واکنش با افزودن محلول نمونه‌ها به محلول بافری واکنش، آغاز شد. فعالیت آنزیم با تغییر جذب دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤٧٠ نانومتر به‌مدت ۳۰ ثانیه و ضریب خاموشی ۲٦/٦ میلی‌مولار بر سانتی‌متر محاسبه گردید، و بر حسب U/mg protein بیان شد. یک واحد فعالیت این آنزیم معادل تشکیل یک میکرومول تتراگایاکول در دقیقه است.

پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، مقدار ۰/۵ گرم از نمونه درون لوله آزمایش قرار داده شد و ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار به آن اضافه گردید. نمونه حاصله در دمای ٤ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه با دور ١٤٠٠٠در دقیقه سانتریفوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول سانتریفوژ شده ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد (W/V) اسید تیوباربیتوریک که حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد (W/V) است، اضافه گردید و مخلوط در حمام آب داغ تحت دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. به منظور توقف واکنش، ظرف محتوی مخلوط حرارت داده شده به سرعت درون حمام یخ به مدت۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مخلوط سرد شده با دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و سایرآلدئیدهای تولیدشده توسط واکنش با تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) که سبب تشکیل کمپلکس قرمز (MDA-TBA) در طول موج ۵۳۲ نانومتر می شود توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد، سپس جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ٦۰۰ نانومتر تعیین شد و از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $mM^{-1}cm^{-1}$ ۱۵۵ استفاده شد و در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدهید که محصول پراکسیداسیون لیپیدها است بر اساس میکرومول در گرم وزن خشک محاسبه گردید (Heath and Packer, 1968).

اندازه‌گیری نشت یونی و تعیین کلروفیل کل: برای اندازه گیری نشت یونی (EL)، برگ‌های هر نمونه را به طول ۲ میلی متر قطعه قطعه و در لوله‌های آزمایشگاهی قرار داده شدند و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از ۱۲ ساعت، هدایت الکتریکی اولیه محیط (EC_1) با استفاده از دستگاه EC سنج مدل Milwaukee Mi 306 اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شدند تا به‌طور کامل همه‌ی الکترولیت‌های موجود در بافت‌ها آزاد شوند. بعد از آن نمونه‌ها تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خنک شدند و هدایت الکتریکی ثانویه (EC_2) اندازه‌گیری شد و میزان EL با استفاده فرمول EL = (EC1 / EC2) 100 محاسبه شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ گیاه با ۱ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت rpm ٦۰۰۰ سانتریفیوژ شد و در نهایت عصاره استونی شفاف را جدا کرده و پس از قرار دادن در نیم ساعت تاریکی، اندازه‌گیری کلروفیل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در دو طول موج ٦٦۳ و ٦٤۵ نانومتر انجام گرفت و در نهایت میزان کلروفیل کل طبق فرمول زیر به دست آمد (Tobita and Dionisio-Sese, 1998).

Total Ch = [۲۰/۲ (A ٦٤۵) + ۸۰/۲ (A ٦٦۳)] V/۱۰۰W

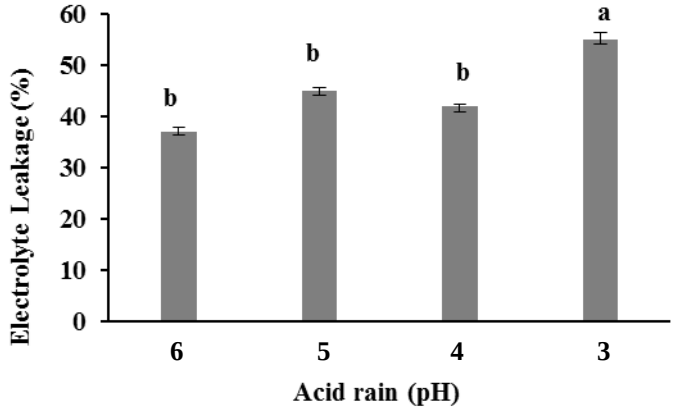
تجزیه آماری: این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی با تیمار باران اسیدی در چهار سطح و سه تکرار انجام گرفت. تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS (9.1) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج:

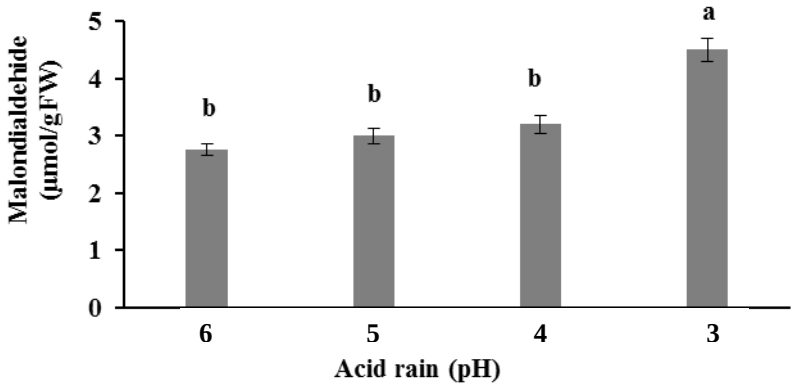
میزان نشت یونی و پراکسیداسیون لیپید: میزان نشت یونی با کاهش میزان pH باران اسیدی تا ٤، به‌طور معنی‌داری افزایش نیافت، ولی در pH= ۳ افزایش معنی‌داری یافت. نشت یونی در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]



شکل ۱- اثر باران اسیدی در pHهای مختلف بر میزان نشت یونی برگ‌های افرای پلت، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد غیر معنی‌دار هستند.



شکل ۲- اثر باران اسیدی در pHهای مختلف بر میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ‌های افرای پلت، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد غیر معنی‌دار هستند.

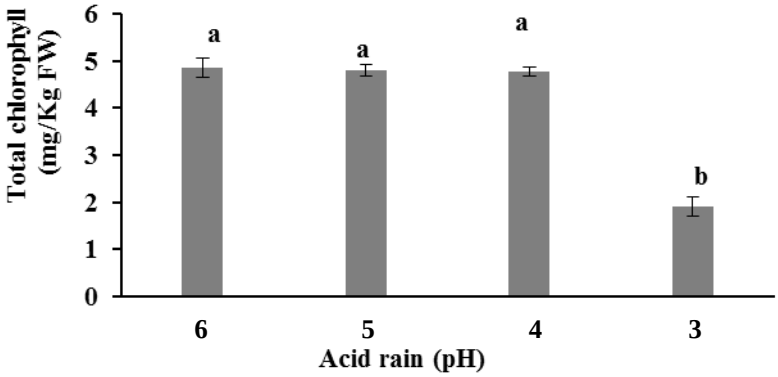
گیاهان مواجه‌شده با باران اسیدی دارای pH= ۳ نسبت به گیاهان شاهد افزایش چشمگیری داشت و از نظر آماری تفاوت آن‌ها معنی دار بود (شکل ۱). این شاخص میزان آسیب‌دیدگی به غشا را نشان می‌دهد و رابطه‌ی معکوسی با پایداری غشا دارد.

کاهش pH باران اسیدی تا ٤، تأثیری بر میزان پراکسیداسیون لیپید غشا نداشت و آن را در سطح تقریبا یکسانی با گیاهان شاهد نگه داشت. تنها گیاهان مواجه‌شده با باران اسیدی pH= ۳ افزایش معنی‌داری در میزان پراکسیداسیون لیپید نشان دادند، به‌طوری که افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید در این گیاهان نسبت به گیاهان شاهد قابل ملاحظه بود (شکل ۲). میزان مالون‌دی‌آلدئید شاخصی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید غشا است و رابطه مستقیمی با آن دارد.

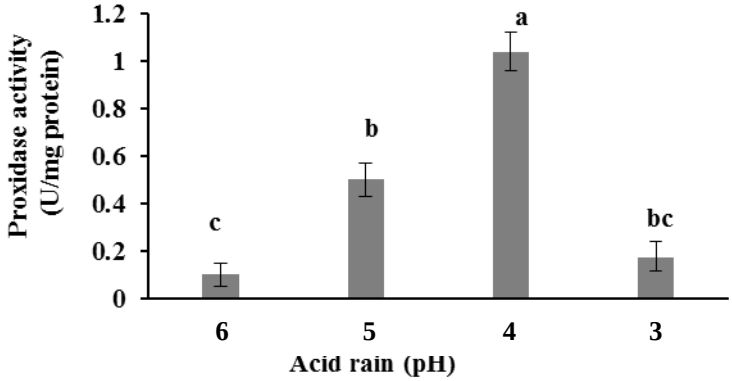
میزان کلروفیل کل: همان‌طور که شکل ٤ نشان می‌دهد، در میزان کلروفیل کل با کاهش اسیدیته‌ی باران تا pH= ٤ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد، ولی در برابر باران اسیدی با pH= ۳ کاهش معنی‌داری در کلروفیل کل دیده شد. میزان کلروفیل کل در گیاهان مواجه‌شده با باران اسیدی دارای pH= ۳ نسبت به گیاهان شاهد به میزان زیادی کاهش یافت (شکل ۳).

میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز: مقایسه میانگین اثر باران اسیدی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از روش توکی معنی‌دار نبود ولی بر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات-پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. با کاهش میزان اسیدیته در باران اسیدی تا pH= ٤ میزان فعالیت آنزیم های پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز نسبت به گیاه شاهد

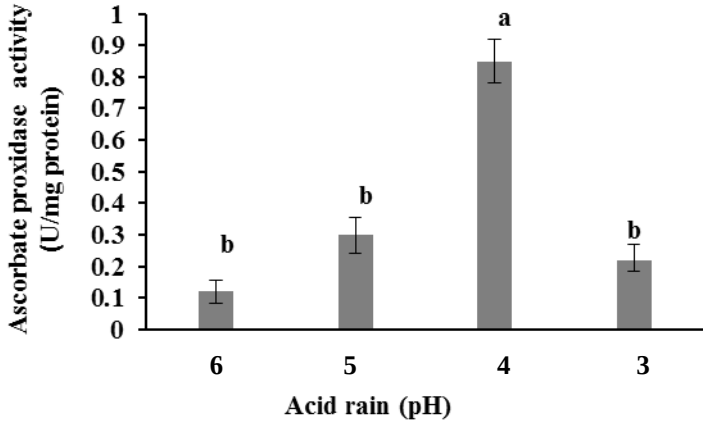
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]



شکل ۳- اثر باران اسیدی در pHهای مختلف بر میزان کلروفیل کل برگ‌های افرای پلت، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد غیر معنی‌دار هستند.



شکل ٤- اثر باران اسیدی در pHهای مختلف بر میزان فعالیت پراکسیداز برگ‌های افرای پلت، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد غیر معنی‌دار هستند.



شکل ٥- اثر باران اسیدی در pH های مختلف بر میزان فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز برگ‌های افرای پلت، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد غیر معنی‌دار هستند

افزایش یافتند. میزان فعالیت پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز در گیاهان تیمارشده با باران اسیدی دارای pH= ۳ نسبت به گیاهان تیمارشده با باران اسیدی دارای pH= ٤ کمتر بودند، ولی نسبت به گیاهان شاهد تغییر معنی‌داری نکردند (به ترتیب شکل ٤ و ٥).

تأثیر ریخت‌شناسی باران اسیدی بر برگ‌های افرای پلت: برگ‌های افرای پلت توانستند در برابر باران اسیدی تا pH= ٤ سالم و بدون تغییر باقی بمانند ولی باران اسیدی با pH= ۳

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]



شکل ٦- سمت راست: گیاه افرای پلت شاهد (تیمارشده با باران pH = ٦)، سمت چپ: برگ‌های افرای پلت مواجه شده با باران اسیدی pH = ٣.

باعث آسیب جدی و بارز بر برگ‌ها شد. آسیب‌ها شامل بافت مردگی (necrosis) و خمیدگی حاشیه برگ بود (شکل ٦).

بحث:

در این پژوهش، بروز لکه‌های نکروزه بر روی برگ‌های درخت افرای پلت (*A. velutinum* Boiss) تنها در گیاهان مواجه‌شده با باران اسیدی pH= ٣، مشاهده شد. بنابر مطالعات میکرومورفولوژی برگی انجام‌گرفته توسط Bruno و همکاران (٢٠٠٦)، منافذ روزنه‌ای در درخت گرمسیری جنیپا (*Genipa americana* L.) پس از مواجه‌شدن با باران اسیدی شبیه‌سازی شده، شکل طبیعی خود را از دست داده و لبه‌ی بیرونی روزنه ها از هم گسیخته شدند. کاهش استحکام در یاخته‌های جانبی سلول‌های نگهبان روزنه و تغییر در تراوایی این یاخته‌ها نیز توسط آن‌ها گزارش گردید. افزون بر این، بافت‌مردگی ناشی از باران اسیدی در برگ‌های عنبر سائل توسط Chen و همکاران (2013) و در خیار توسط Wyrwicka و Skłodowska (٢٠٠٦) گزارش شده است. خمیدگی حاشیه برگ‌ها و نکروزه شدن در گیاهان آبوتیلون (*Abutilon theophrasti* Medik.) در pH= ٢/٥ نیز گزارش گردیده است (Mersie and Foy, 1986). وجود لکه‌های نکروزه در پژوهش حاضر را می‌توان به پاره شدن غشا و از بین رفتن یاخته‌ها به‌خاطر آسیب واردآمده به آن‌ها توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) برانگیخته‌شده توسط تنش باران اسیدی، نسبت داد. در حقیقت، باران اسیدی به عنوان یک تنش غیرزیستی سطوح ROS را در بافت‌های گیاهی بالا می‌برد (Kong *et al.*, 2000; Velikova *et al.*, 2000; Gabara *et al.*, 2003). سطوح بالای ROS برای یاختههای گیاهی بسیار خطرناک بوده و به غشاها، پروتئین‌ها و DNA آسیب وارد می‌کند. ROSها در گیاهان برنج مواجه‌شده با باران اسیدی نیز باعث نکروزه شدن برگ‌ها شده است (Wang *et al.*, 2014). همچنین ROS ها اصلی‌ترین عامل برای مرگ بسیاری از گیاهان مواجه‌شده با تنش‌های سخت محیطی هستند (Del Río *et al.*, 2002).

پراکسیداسیون لیپید واکنشی است که در آن ترکیبات لیپوئیدی غشا از هم متلاشی می‌گردد. پراکسیداسیون لیپید در غشا زمانی رخ می‌دهد که سطوح ROS به حد آستانه خود رسیده باشد (Montillet *et al.*, 2005). افزایش پراکسیداسیون لیپید در برگ‌های افرا پس از مواجه‌شدن با باران اسیدی نشان دهنده‌ی میزان آسیب‌دیدن گیاه است. Chen و همکاران (٢٠١٤) گزارش کردند که در درختان سپیدار مواجه‌شده با تنش شوری، افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید ناشی از افزایش تولید ROSها است. همچنین Christou و همکاران (٢٠١٤) دریافتند که تنش‌های محیطی در توت‌فرنگی به واسطه‌ی تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن در سلول‌ها باعث آسیب به بخش‌های مختلف از جمله لیپیدهای غشایی می‌شوند. بنابراین به‌نظر می‌رسد که آسیب واردآمده به غشای یاخته‌ها در برگ های افرای پلت در نتیجه تنش اکسیداتیو ناشی از باران اسیدی باشد. افرای پلت توانست تا pH= ٤ باران مقاومت نشان دهد و هیچگونه رنگ‌پریدگی در برگ‌ها ظاهر نشود، اما در pH= ٣ تخریب کلروفیل به‌طور چشمگیری صورت گرفته است. کاهش میزان کلروفیل در گیاهان آبوتیلون (*Abutilon theophrasti* Medik.) (Mersie and Foy, 1986) و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]

خیار (*Cucumis sativus*) (Wyrwicka and Skłodowska, 2006) و در درخت عنبر سائل (*Liquidambar formosana*) و شیما (*Schima superba*) (Chen *et al.*, 2013) بسیار وابسته به میزان pH باران اسیدی بکاررفته بود، به‌گونه‌ای که با کم کردن pH میزان کلروفیل در برگ‌ها کاهش یافت.

فعالیت آنزیم سوپراکسیدیسموتاز در برگ‌های افرا به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر باران اسیدی قرار نگرفت. برعکس، فعالیت پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز با افزایش اسیدیته باران افزایش یافتند. ولی ضمن مواجهه با باران اسیدی pH= ۳ بسیار کاهش یافتند. میزان آسکوربات‌پراکسیداز بالا را می‌توان یکی دیگر از علت‌های اصلی سالم ماندن برگ‌ها در مقابل باران اسیدی با pH پایین ذکر کرد. بنابر گزارش Kavitha و همکاران (۲۰۰۸) تنش اکسیداتیو موجب افزایش در نسخه برداری آسکوربات‌پراکسیداز در برگ‌های *Avicennia marina* می‌شود. آن‌ها همچنین بیان نمودند که فعالیت آسکوربات پراکسیداز در برگ‌های *A. marina* نقشی در کاستن اثرات زیان‌بار تنش اکسیداتیو دارد. گذشته از این‌ها، بیان ژن‌های آسکوربات‌پراکسیداز به‌خاطر آلودگی هوا توسط Kubo و همکاران (۱۹۹۵) و Rao و همکاران (۱۹۹٦) گزارش گردیده است. همچنین Bueno و Piqueras (۲۰۰۲) ثابت کردند که آسکوربات‌پراکسیداز از یاخته‌های تنباکو در برابر H_2O_2 تحت شرایط تنش‌زا محافظت می‌کند. نقش آسکوربات‌پراکسیداز در حذف ROS از یاخته‌های *Euphorbia esula* L. در پاسخ به تنش‌های محیطی از جمله شوری، خشکی و سمیت عناصر نیز توسط Davis و Swanson (۲۰۰۱) گزارش شده است. افزون بر این، مشخص شده است که آسکوربات‌پراکسیداز یکی از عوامل مهم پاکسازی و حذف ازن و ROSهای برگرفته‌شده از ازن در آپوپلاست می‌باشد (Chameides, 1989). اخیراً نقش آسکوربات‌پراکسیداز پروکسی‌زومی در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی از طریق کاهش تجمع H_2O_2 در گیاه آرابیدوپسیس تراریخته‌شده به اثبات رسیده است (Guan *et al.*, 2015). بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، احتمال می‌رود آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز نقش مهمی در محافظت گیاه در برابر باران اسیدی داشته باشد.

نتیجه‌گیری کلی:

طبق این پژوهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در pH آسیب‌زننده بسیار کاهش یافت و آسیب‌های ظاهری بروز پیدا کرد. درخت افرای پلت به‌خوبی توانست در برابر پایین آوردن شدت اسیدیته باران اسیدی تا pH= ٤ مقاومت کند و ظاهر خود را حفظ نماید اما در برابر باران اسیدی با pH= ۳ حساسیت نشان داد و آسیب دید. طبق نتایج این تحقیق، درخت افرای پلت را می‌توان در مناطقی که میزان اسیدیته باران اسیدی تا pH= ٤ هم می‌رسد پرورش داد. روی هم‌رفته، پژوهش‌های گسترده‌ای لازم است تا مکانیسم دقیق اثر باران اسیدی و سیستم‌های مقاومت گیاهان را در برابر باران‌های اسیدی مشخص نماید.

منابع:

Athar, H. R., Khan, A. and Ashraf, M. (2008) Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. Environmental and Experimental Botany 63: 224-231.

Bear, F. (1964) Chemistry of the Soil. Reinhold Publisher Corp., New York, second edition, 515 p.

Bellani, L. M., Rinallo, C. Muccifora, S. and Gori, P. (1997) Effect of simulated acid rain on pollen physiology and ultrastructure in the apple. Environmental Pollution 95: 357-362.

Botkin, D. B. and Keller, A. (2003) Environmental Science, 4th Ed. John Wiley and Sons, USA, pp.485-519.

Bouwman, A. F., Van Vuuren, D. P., Derwent, R. G. and Posch, M. (2002) A global analysis of acidification and eutrophication of terrestrial ecosystems. Water Air Soil Pollution 141: 349–382.

Bruno F. S., Silva, L. C., Azevedo, A. A. and Aguiar, R. (2006) Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). Brazilian Archives Biology and Technology 49: 313-321.

Bueno, P. and Piqueras, A. (2002) Effect of transition metals on stress, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in tobacco cell cultures. Plant Growth Regulation 36: 161–167.

Chameides, W. L. (1989) The chemistry of ozone deposition to plant leaves: Role of ascorbic acid,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]

ascorbate peroxidase from Avicennia marina: Molecular and functional characterization. Plant Physiology and Biochemistry 46: 794-804.

King, H. B., Wang, M. K., Zhuang, S. Y., Hwong, J. L., Liu, C. P. and Kang, M. J. (2006) Sorption of sulfate and retention of cations in forest soils of Lien-Hua-Chi watershed in central Taiwan. Geoderma 13: 143-153.

Kita, I., Sato, T., Kase, Y. and Mitropoulos, P. (2004) Neutral rains at Athens, Greece: a natural safeguard against acidification of rains. Science of the Total Environment 327: 285-294.

Kong, F. X., Liu, Y., Hu, W., Shen, P. P., Zhou, C. L. and Wang, L. S. (2000) Biochemical responses of the mycorrhizae in Pinus massoniana to combined effects of Al, Ca and low pH. Chemosphere 40: 311-318.

Kubo, A., Saji, H., Tanaka, K. and Kondo, N. (1995) Expression of Arabidopsis cytosolic ascorbate peroxidase gene in response to ozone or sulfur dioxide. Plant Molecular Biology 29: 479–489.

Kumar, A. J., Gough, W. A., Karagatzides, J. D., Bolton, K. A. and Tsuji, L. J. S. (2001) Testing the validity of a critical sulphur and nitrogen load model in Southern Ont., Canada, using soil chemistry data from MARYP. Environmental Monitoring and Assessment 69: 221–230.

Mersie, W. and Foy, C. L. (1986) Effects of acidity of simulated acid rain and its influence on the phytotoxicity of chlorsulfuron on velvetleaf and barly. Environmental and Experimental Botany 26: 341-347.

Montillet, J. L., Chamnongpol, S. C., Rustérucci, J., Dat, B., van de Cotte, J. P., Agnel, C., Battesti, D., Inzé, F., Van, B. and Triantaphylides, C. (2005) Fatty acid hydroperoxides and H_2O_2 in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves. Plant Physiology 138: 1516-1526.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867–880.

Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Prihatin, J., Corebima, A.D. and Abdul Gofur A. (2015) The Effect of exposure of mulberry to acid rain on the defects cocoon of *Bombyx mori* L. Procedia Environmental Sciences 23: 186-191.

Rao, M.V, Paliyath. G. and Ormrod, D. P. (1996) Ultraviolet-B- and ozone induced biochemical changes in antioxidant enzymes of Arabidopsis thaliana. Plant Physiology 110: 125–136.

Seufert, G., Hoyer, V., Wollmer, H. and Arndt, U. (1990) The Hohenheim long-term experiment. General methods and materials. Environmental Pollution 68: 205–229.

Silva, L. C., Azevedo, A. A., Silva, E. A. M. and Oliva, M. A. (2005) Effects of simulated acid rain on the Environmental Science Technology 23: 595–600.

Chen, J., Wang, W., Liu, T., Wu, F. and Zheng, H. (2013) Photosynthetic and antioxidant responses of *Liquidambar formosana* and *Schima superba* seedlings to sulfuric-rich and nitric-rich simulated acid rain. Plant Physiology and Biochemistry 64: 41-51.

Chen, S., Hawighorst, P., Sun, J. and Polle, A. (2014) Salt tolerance in *Populus*: Significance of stress signaling networks, mycorrhization, and soil amendments for cellular and whole-plant nutrition. Environmental and Experimental Botany 107: 113-124.

Christou, A., Manganaris, G. A., and Fotopoulos V. (2014) Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plant via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. Environmental and Experimental Botany 107: 46-54.

Davis, D. G. and Swanson, H. R. (2001) Activity of stress-related enzymes in the perennial weed leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). Environmental and Experimental Botany 46: 95–108.

De Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Eneas-Filho, J., De Abreu, C. E. B. and Gomes-Filho, E. (2006) Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environmental and Experimental Botany 56:87-94.

Del Río, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M., Gómez, M. and Barroso, J. B. (2002) Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. Journal of Experimental Botany 53: 1255-1272.

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

Gabara, B., Skłodowska, M., Wyrwicka, A., Gli´nska, S. and Gapi´nska, M. (2003) Changes in the ultrastructure of chloroplasts and mitochondria and antioxidant enzyme activity in *Lycopersicon esculentum* Mill. leaves sprayed with acid rain. Plant Science 164: 507–516.

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

Guan, Q., Wang, Z., Wang, X., Takano, T. and Liu, S. (2015) A peroxisomal APX from *Puccinellia tenuiflora* improves the abiotic stress tolerance of transgenic *Arabidopsis thaliana* through decreasing of H_2O_2 accumulation. Plant Physiology 175: 183-191.

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

Kavitha, K., Venkataraman, G. and Parida, A. (2008) An oxidative and salinity stress induced peroxisomal

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]

ultrastructure in soybean seedlings. Chemosphere 84: 601-608.

Wiersema, J. H. and Blanca, L. (1999) World Economic plants: A standard Reference. CRC press. New York P. 792.

Wu, Q. and Han, G. (2015) Sulfur isotope and chemical composition of the rainwater at the Three Gorges Reservoir. Atmospheric Research 155: 130-140.

Wyrwicka, A. and Skłodowska, M. (2006) Influence of repeated acid rain treatment on antioxidative enzyme activities and on lipid peroxidation in cucumber leaves. Environmental and Experimental Botany 56: 198-204.

Zhang, J. E., Ouyang, Y. and Ling, D. J. (2007) Impact of simulated acid rain on cation leaching from the Latosol in south China. Chemospher 67: 2131-2137.

growth and anatomy of five Brazilian tree species. Australian Journal of Botany 53: 1-8.

Singh, J., Upadhyay, A.K., Prasad, K., Bahadur, A. and Rai, M. (2007) Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in brassica vegetables. Journal of Food Composition and Analysis 20: 106-112.

Velikova, V., Yordanow, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. Plant Science 151: 59–66.

Wang, L., Wang, W., Zhou, Q. and Huang, X. (2014) Combined effects of lanthanum (III) chloride and acid rain on photosynthetic parameters in rice. Chemosphere 112: 355-361.

Wen, K., Liang, C., Wang, L., Hu, G. and Zhou, Q. (2011) Combined effects of lanthanumion and acid rain on growth, photosynthesis and chloroplast

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.10.3]