

## تأثیر فاصله از منبع آلوده‌کننده هوا بر وضعیت تغذیه‌ای آهن در گیاه بارهنگ در شیراز

وحید محصلی<sup>1</sup>، امیرحسین خوش‌گفتارمنش و حسین شریعتمداری

دانشجوی دکتری گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان و عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران؛ [v.mohasseli@areeo.ac.ir](mailto:v.mohasseli@areeo.ac.ir)

استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان؛ [amirhkhosh@cc.iut.ac.ir](mailto:amirhkhosh@cc.iut.ac.ir)

استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان؛ [shariat@cc.iut.ac.ir](mailto:shariat@cc.iut.ac.ir)

دریافت: 94/9/17 و پذیرش: 95/6/8

### چکیده

آهن به عنوان یکی از عناصر غذایی ضروری کم‌مصرف، نقش بسزایی در فعالیت آنزیم‌های مهم آنتی‌اکسیدان بر عهده داشته و از این طریق تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از سوی دیگر، تنش‌های محیطی از جمله آلودگی هوا با تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، وضعیت تغذیه‌ای آهن گیاه را تغییر می‌دهند. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تغییرات غلظت آهن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرتبط با آهن در گیاه بارهنگ با فاصله از منابع آلاینده هوا بود. گازهای حاصل از فعالیت پالایشگاه شیراز و ترافیک شهری میدان امام حسین به عنوان منبع آلاینده هوا انتخاب شده و در فواصل مختلف از این دو میدانه از گیاه بارهنگ نمونه‌برداری انجام گردید. غلظت آهن، روی، کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برگ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با دورتر شدن از پالایشگاه، غلظت آهن در گیاه افزایش یافت بطوری‌که در شهرک رکن‌آباد (12 کیلومتری پالایشگاه)، 34/86 درصد و در باغ ملی (20 کیلومتری پالایشگاه)، 44/73 درصد افزایش غلظت آهن در مقایسه با گیاهان اطراف پالایشگاه مشاهده شد. همچنین با افزایش فاصله از پالایشگاه، غلظت کلروفیل گیاه نیز با یک روند صعودی همراه بود. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاه با فاصله از پالایشگاه افزایش یافت. در ارتباط با مسیر دوم، ترافیک شهری میدان امام حسین به‌استثناء غلظت آهن، تغییرات مشخصی در غلظت کلروفیل و نیز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاه با فاصله از مبدأ آلودگی مشاهده نگردید که علت آن تغییرات نامنظم غلظت آلاینده‌های هوا بدلیل تردد وسایل نقلیه در تمام طول این مسیر عنوان می‌شود. هرچند عوامل مختلفی از جمله برخی ویژگی‌های خاک ممکن است در این زمینه تأثیر گذار باشند اما با توجه به عدم وجود تفاوت بین خصوصیات خاک‌ها بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ارتباط نزدیکی بین وضعیت تغذیه‌ای آهن گیاهان بارهنگ و درجه آلودگی هوا وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: آلاینده‌های هوا، پراکسیداز، غلظت آهن، کاتالاز، گیاه بارهنگ

<sup>1</sup> نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس

## مقدمه

آلودگی هوا اثرهای زیادی بر گیاهان داشته و عملکرد گیاهان را محدود می‌کند، بنابراین باید این آثار را بر روی گیاهان شناسایی کرده و در آینده که آلودگی بیشتر هوا حتمی است تحمل گیاهان را از طریق برنامه‌های مدیریت زراعی یا اصلاح ژنتیکی افزایش داد. حساسیت گونه‌های مختلف گیاهی در برابر آلودگی بسته به غلظت مواد آلاینده، مدت زمان در معرض بودن گیاه و سن گیاه متفاوت است. بسته به شرایط اقلیمی نیز ممکن است تفاوت‌هایی وجود داشته باشد. رطوبت زیاد خاک، رطوبت نسبی بالا در هوا و شدت نور زیاد خسارت آلودگی را بیشتر می‌کند (اسوانیل و همکاران، 2007). بطور کلی نشانه‌های خسارت ناشی از آلاینده‌ها بر روی گیاهان در سه حالت قابل بررسی است. اول بصورت رنگ‌پریدگی که در اثر کم‌شدن سرعت تولید کلروفیل و یا از بین رفتن آن می‌باشد. دوم بصورت حاد است که اغلب با ظاهر شدن لکه‌های خشکیده در برگ ظاهر می‌شود (بافت‌مردگی یا نکروز) و سوم کاهش رشد. در واقع آلودگی باعث از بین رفتن تدریجی گونه‌های حساس گیاهی می‌شود. اثرهای آلودگی هوا بر روی گیاهان به شکل‌های مختلف شامل صدمه به برگ، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، جلوگیری از فرآیندهای فیزیولوژیکی، تغییر در وظایف متابولیکی، اثر بر فعالیت‌های آنزیمی و جذب عناصر غذایی و کاهش رشد و عملکرد گیاه گزارش شده است (سینگ و همکاران، 2005).

مطالعات راج‌پوت و آگراوال (1994) نشان داد که صدمات ناشی از آلاینده‌های هوا بر روی گیاه سویا در صورت مصرف بهینه عناصر غذایی به شدت کاهش می‌یابد. همچنین تحقیقات نشان دادند که آلودگی هوا بطور معنی‌داری سبب کاهش ارتفاع گیاه و وزن خشک گندم می‌گردد اما گیاهانی که مقدار کافی از عناصر غذایی را دریافت کرده بودند این کاهش را نشان ندادند (سینگ و همکاران، 2003). بطور کلی گیاهانی که در شرایط فقر عناصر غذایی رشد می‌کنند در مقایسه با گیاهانی که در غلظت بهینه عناصر غذایی رشد می‌نمایند به آلودگی هوا حساس‌تر می‌باشند (کالمان و همکاران، 1989). رای و کولشرشتا (2006) گزارش کردند گیاهانی که در معرض آلاینده‌های هوا قرار داشتند دچار رنگ‌پریدگی، کاهش محصول و افزایش تعداد سلول‌های اپیدرمی سطح فوقانی و تعداد کرک و کریپت سطح تحتانی گردیدند. وضعیت فیزیولوژی آهن و پاسخ آن‌تی‌اکسیداتیو گیاه نیز ممکن است تحت تأثیر غلظت آلاینده‌های هوا قرار گیرد که البته در این موارد هنوز مطالعه‌ای صورت پذیرفته است. همان‌طور که در حاشیه خیابان‌های شهرهای بزرگ کشور

گیاهان در بین همه‌عناصر کم‌مصرف، بیشترین نیاز را به آهن دارند. آهن، بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسایش و احیاء است و برای سنتز کلروفیل مورد نیاز است. نقش این عنصر در تثبیت نیتروژن و فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (بلاک ریشمان، 2000). همچنین آهن در سنتز پروتئین گیاهی نقش اساسی دارد. شناخته شده‌ترین پروتئین‌های هیم، سیتوکروم‌ها بوده که به عنوان گروه پروستتیک دارای ترکیبات پیچیده آهن هیم‌پرفیرین می‌باشند. دیگر آنزیم‌های هیم عبارتند از کاتالاز و پراکسیدازها که در شرایط کمبود آهن، فعالیت هر دو آنزیم کاهش می‌یابد. بنابراین فعالیت این آنزیم‌ها شاخص مناسب وضعیت غذایی آهن در گیاهان است (مارشور، 1995). تحقیقات نشان داده است که کمبود آهن سبب کاهش 90 و 60 درصدی به ترتیب فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در پیاز می‌گردد (لامباردی و همکاران، 2003).

مطالعات فیزیولوژیکی آهن بیانگر این مطلب است که کمبود این عنصر در گیاه علاوه بر کاهش کلروفیل، فردوکسین را نیز بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد که در نهایت منجر به کاهش مقدار فتوسنتز گیاه می‌شود (استوکینگ، 1975). کمبود آهن سبب کاهش سنتز کلروفیل و بروز زردبرگی می‌شود. در کلروپلاست گیاهان دچار کمبود آهن، سرعت جذب دی‌اکسیدکربن فتوسنتزی به دلیل کاهش ظرفیت فتوشیمیایی کاهش می‌یابد که در واقع یکی از دلایل مهم تنش اکسیداتیو می‌باشد (مارشور، 1995). رادتکه و همکاران (1992) نتیجه گرفتند که سلول‌های اوگلنا که دچار کمبود آهن بودند، نتوانستند در حضور 100 میلی‌مولار پراکسید هیدروژن رشد کنند در حالی که سلول‌های دارای مقدار کافی آهن، در این شرایط به خوبی رشد کردند. بنابراین به نظر می‌رسد که فراوانی آهن در سلول، فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در اوگلنا کنترل می‌کند. مطالعات ایترت ارماتکس و همکاران (1995) نشان داد که حذف آهن از محلول غذایی گیاه نخود فرنگی سبب کاهش 40 درصدی غلظت آهن برگ-های بالایی گیاه، کاهش 62-44 درصدی غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها، کاهش 28 درصدی فتوسنتز و همچنین کاهش 50 درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گردید. با توجه به نقش آن‌تی‌اکسیداتیو این آنزیم‌ها تعیین رابطه بین تنش‌های محیطی مانند آلودگی هوا با وضعیت تغذیه-ای آهن در گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد.

مشاهده می‌شود، زردبرگی (کلروز) آهن از مهمترین مشکلات تغذیه‌ای گیاهان می‌باشد. بطوری‌که منظره خیابان‌ها و پارک‌های این شهرها بشدت تحت تأثیر قرار گرفته است.

با توجه به نقش آهن در فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان گیاهی که حضور آن‌ها برای کنترل گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در شرایط تنش مانند آلودگی هوا اهمیت زیادی دارد ضرورت مطالعه پیرامون وضعیت آهن گیاه در شرایط آلودگی هوا که در حال حاضر اکثر شهرهای کشور با آن مواجه می‌باشند بیش از پیش احساس می‌شود. هر چند مطالعات متعددی در ارتباط با اثرهای آلودگی هوا بر روی گیاهان صورت گرفته است، بخش عمده این مطالعات در ارتباط با پاسخ‌های ریخت-شناسی گیاهان بوده و در مورد وضعیت تغذیه‌ای آهن گیاهانی که در معرض آلاینده‌های هوا قرار دارند اطلاعات بسیار کمی وجود دارد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، تأثیر فاصله از منابع آلوده‌کننده هوا بر غلظت آهن و

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرتبط با آهن در گیاه بارهنگ می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

با استفاده از اطلاعات سازمان حفاظت محیط زیست استان فارس، پالایشگاه شیراز و میدان امام حسین (ع) بعنوان دو منبع اصلی آلوده‌کننده هوا در نظر گرفته شد. دلیل انتخاب این نقاط تفاوت در غلظت آلاینده‌ها و نوع منبع آلاینده می‌باشد. بطوری‌که منبع آلاینده‌ها در پالایشگاه از نوع صنعتی اما در میدان امام حسین (ع) که از مناطق پرتردد شهر می‌باشد دود حاصل از وسایل نقلیه است. این دو نقطه به‌عنوان مبداء مسیر نمونه‌برداری انتخاب شده و به فواصل مشخص (جدول 1) نمونه-برداری از گیاهان انجام گردید. فواصل نمونه‌برداری بر اساس تراکم گیاهی و شدت تغییرات آلودگی هوا تعیین شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نقاط مورد مطالعه در جدول 2 آورده شده است.

جدول 1- مشخصات نقاط مورد مطالعه

نقاط	نام منطقه	موقعیت	طول و عرض جغرافیایی	مشخصات منطقه	ارتفاع از سطح دریا (متر)
1	پالایشگاه	مبداء مسیر شماره 1	29/44 درجه شمالی و 52/39 درجه شرقی	صنعتی	1685
2	دانشکده کشاورزی	8 کیلومتر بعد از مبداء	29/44 درجه شمالی و 52/38 درجه شرقی	آموزشی	1703
3	شهرک رکن آباد	12 کیلومتر بعد از مبداء	29/41 درجه شمالی و 52/33 درجه شرقی	شهرک مسکونی	1742
4	شهرک زیباشهر	15 کیلومتر بعد از مبداء	29/39 درجه شمالی و 52/32 درجه شرقی	شهرک مسکونی	1737
5	باغ ملی	20 کیلومتر بعد از مبداء	29/37 درجه شمالی و 52/33 درجه شرقی	بوستان	1542
6	میدان امام حسین (ع)	مبداء مسیر شماره 2	29/37 درجه شمالی و 52/31 درجه شرقی	خیابان	1550
7	میدان نمازی	2 کیلومتر بعد از مبداء	29/37 درجه شمالی و 52/31 درجه شرقی	خیابان	1563
8	بیمارستان حافظ	5 کیلومتر بعد از مبداء	29/38 درجه شمالی و 52/30 درجه شرقی	خیابان	1570
9	خیابان نیایش	7 کیلومتر بعد از مبداء	29/39 درجه شمالی و 52/29 درجه شرقی	خیابان	1607
10	خیابان تاجارا	10 کیلومتر بعد از مبداء	29/41 درجه شمالی و 52/28 درجه شرقی	خیابان	1655
11	گلدشت حافظ	15 کیلومتر بعد از مبداء	29/43 درجه شمالی و 52/26 درجه شرقی	شهرک مسکونی	1714
12	دوکوهک	20 کیلومتر بعد از مبداء	29/47 درجه شمالی و 52/24 درجه شرقی	شهرک مسکونی	1787
13	قلات	30 کیلومتر بعد از مبداء	29/49 درجه شمالی و 52/19 درجه شرقی	شهرک مسکونی	2018

جدول 2- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نقاط مورد مطالعه

نقاط	بافت خاک	pH (خمیر اشباع)	قابلیت هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	ماده آلی (درصد)	فسفر محلول در سدیم بی‌کربنات (میکروگرم در گرم خاک)	پتاسیم محلول در آمونیوم استات (میکروگرم در گرم خاک)	آهن محلول در دی‌تی‌پی‌ا (میکروگرم در گرم خاک)	روی محلول در دی‌تی‌پی‌ا (میکروگرم در گرم خاک)
1	لومی	7	0/9	0/8	12	185	1/8	1/5
2	لوم‌سیلتی	7/5	1	1/6	18	230	2/2	1/9
3	لوم‌سیلتی	7/3	0/8	0/7	10	197	1/7	1/4
4	لوم‌شنی	7/2	0/6	0/8	14	209	1/5	1/1
5	لوم‌رسی	7/6	1	2/2	16	245	1/8	1/7
6	لوم‌سیلتی	7/5	1/1	1/8	11	182	2	1/8
7	لوم‌سیلتی	7/5	0/7	1/5	15	226	1/6	1/4
8	لومی	7/2	0/8	0/9	10	196	1/7	1/9
9	لوم‌سیلتی	7/4	0/6	0/7	13	211	2	1/7
10	لوم‌شنی	7/5	0/5	1/9	11	198	1/5	1/8
11	لوم‌شنی	7/1	0/8	0/8	14	204	1/8	1/6
12	لوم‌شنی	7	0/7	2/5	10	232	1/9	1/9
13	لوم‌شنی	7/3	0/9	1/7	15	208	1/5	1/3

## نمونه برداری از گیاهان

گیاه مورد استفاده در این تحقیق بارهنگ (*Plantago major L.*) می‌باشد. این گیاه به‌طور نسبی در تمام سطح شهر شیراز بصورت پراکنده وجود دارد. جهت نمونه- برداری از گیاه علفی بارهنگ که در فصل تابستان انجام گردید، در هر نقطه ذکر شده در جدول 1 حدود 30 بوته گیاهی شبیه به هم که از پراکنش خوبی نیز برخوردار بودند انتخاب شده (هر 10 بوته مجاور هم یک تکرار و در مجموع 3 تکرار در نظر گرفته شد) سپس بوته‌ها از ناحیه طوقه جدا گردید. پس از انتقال نمونه‌های گیاهی بصورت تازه به آزمایشگاه و شستشوی آن‌ها با آب مقطر، هر نمونه به دو قسمت تقسیم گردید که یک سری از نمونه‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 65 درجه سلسیوس خشک‌کن قرار داده و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد (نمونه خشک) و دسته دوم نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های مورد نظر، در نیتروژن مایع نگه‌داشته شد (نمونه فریز شده).

## اندازه‌گیری غلظت آهن

بعد از تهیه خاکستر برگ‌ها در کوره با دمای 550 درجه سلسیوس، خاکستر در اسید کلریدریک 2 نرمال هضم شده سپس غلظت آهن توسط دستگاه جذب اتمی (Model 3030, Perkin Elmer, Wellesley, MA) اندازه- گیری شد (جونز، 1984).

## اندازه‌گیری غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها

در نمونه‌های فریز شده در نیتروژن مایع پس از استخراج کلروفیل و کاروتنوئیدهای هر یک از نمونه‌های

گیاهی با استفاده از استون 80 درصد، جذب نوری در طول موج‌های 470، 645 و 663 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (PD-303UV, Kawaguchi, Saitama, Japan) انجام گردید. سپس با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه محاسبه شد. در این فرمول‌ها V حجم محلول صاف شده (سانتی‌متر مکعب)، W وزن تر نمونه (گرم) استفاده شده و A جذب نوری در طول موج‌های 470، 645 و 663 نانومتر می‌باشد (آرنون، 1967).

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 * A_{663} - 0.86 * A_{645}) \frac{V}{100W}$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 * A_{645} - 3.6 * A_{663}) \frac{V}{100W}$$

$$\text{Carotenoides} = 100(A_{470} - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227$$

## اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

برای استخراج محلول پروتئینی برگ، 1 میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم 50 میلی‌مولار به 0/1 گرم نمونه اضافه شد. سپس نمونه در حمام یخ ساییده و مخلوط حاصله مدت 15 دقیقه با 4000 دور در دقیقه در دمای 4 درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سانچس فعالیت آنزیم کاتالاز در این محلول استخراج شده با استفاده از محاسبه مقدار پراکسید هیدروژن در 240 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (PD-303UV, Kawaguchi, Saitama, Japan) انجام شد (بریتان و مهلی، 1955). مخلوط واکنش شامل بافر فسفات سدیم 50 میلی‌مولار با پ‌هاش معادل 7 و پراکسید هیدروژن 30 درصد است. با اضافه کردن 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش

### نتایج و بحث غلظت آهن در گیاه

در مسیر نمونه برداری شماره 1 با افزایش فاصله نسبت به منبع آلاینده هوا (پالایشگاه) که در واقع با کاهش آلاینده‌ها همراه است، غلظت آهن در بوته‌های بارهنگ افزایش نشان داد (شکل 1). بطوری‌که غلظت این عنصر در گیاهان شهرک رکن‌آباد (12 کیلومتری پالایشگاه) 34/86 درصد و در باغ ملی که دورترین نقطه نسبت به پالایشگاه می‌باشد 44/73 درصد بیشتر از گیاهان اطراف پالایشگاه بود. به عبارتی غلظت آهن گیاه در انتهای مسیر 1 (دورترین نقطه از پالایشگاه) در مقایسه با نقطه مبدا حدود 1/81 برابر بوده است. همچنین تغییرات غلظت آهن در گیاهان مسیر نمونه‌برداری شماره 2، با فاصله از ترافیک میدان امام حسین (ع)، همانند مسیر 1 از روند صعودی برخوردار بود بطوری‌که غلظت آهن در گیاهان میدان امام حسین (ع) و قلات به ترتیب 379/27 و 530/07 میلی‌گرم بر کیلوگرم بدست آمده که در واقع 28/45 درصد افزایش در غلظت آهن را نشان می‌دهد (شکل 1).

شروع گردید. تغییرات جذب (تفاضل جذب در زمان شروع واکنش از جذب در زمان یک دقیقه) پس از شروع واکنش محاسبه شد.

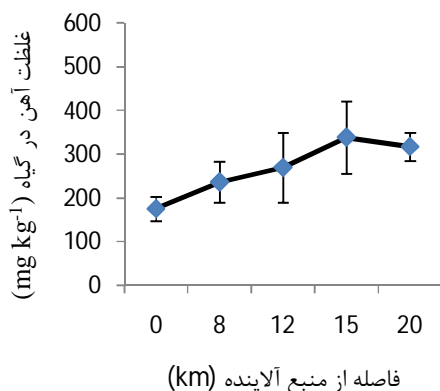
### اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

جهت بررسی فعالیت این آنزیم 50 میکرولیتر از محلول پروتئینی استخراج شده به 3 میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم 50 میلی‌مولار با pH 7 بعلاوه 3/35 و 4/51 میکرولیتر به ترتیب گویاکول و پراکسید هیدروژن 30 درصد اضافه شده و در نهایت این مخلوط در کووت اسپکتروفتومتر ریخته شد و در طول موج 470 نانومتر فعالیت آنزیمی بر اساس تغییرات جذب در 2 دقیقه قرائت گردید (بریتان و مهلی، 1955).

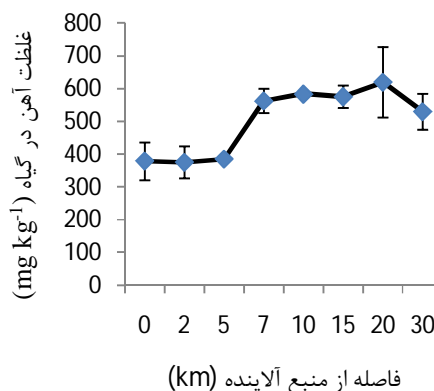
### تجزیه‌های آماری

این آزمایش به صورت کرت‌های خردشده در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در دو منطقه در نقاط نمونه برداری مختلف (13 نقطه) بر روی گیاه بارهنگ و در 3 تکرار بطور مجموع بر روی 39 گیاه به مرحله اجرا در آمد. داده‌های بدست آمده با نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و رسم شکل‌ها نیز به کمک نرم افزار Excel صورت پذیرفت.

مسیر شماره یک



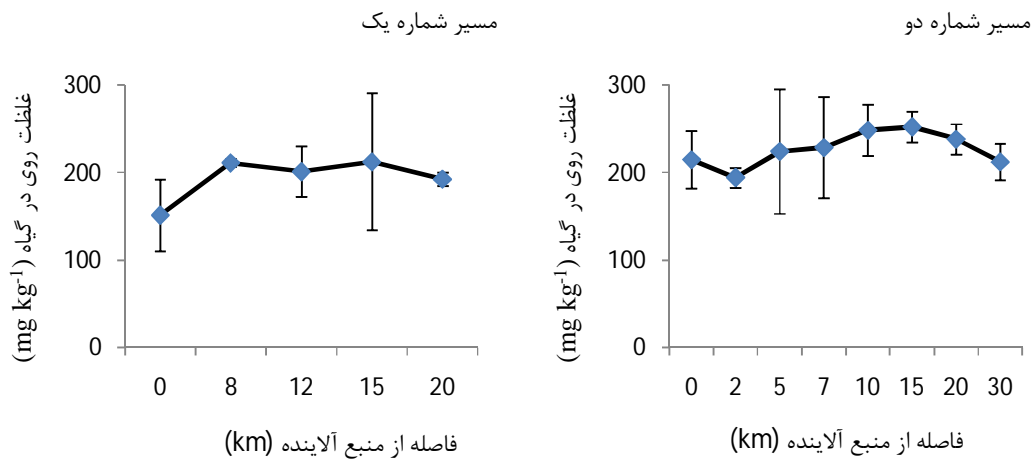
مسیر شماره دو



شکل 1- تغییرات غلظت آهن در گیاه بارهنگ با فاصله از منابع آلاینده هوا. مسیر شماره یک، پالایشگاه شیراز و مسیر شماره دو، میدان امام حسین (ع) است

برداری شماره 2، با فاصله از ترافیک میدان امام حسین (ع)، از یک روند صعودی برخوردار بود هرچند در انتهای مسیر با کاهش غلظت همراه گردید. بیشترین غلظت روی در گیاهان گلدشت حافظ مشاهده گردید (252/49 میلی‌گرم بر کیلوگرم) که در واقع 14/98 درصد افزایش نسبت به غلظت روی در گیاهان میدان امام حسین (ع) را نشان می‌دهد (شکل 2).

غلظت روی در گیاه نیز با افزایش فاصله نسبت به پالایشگاه (مسیر نمونه‌برداری شماره 1) افزایش نشان داد (شکل 2). بیشترین غلظت این عنصر در گیاهان شهرک زیباشهر (212/5 میلی‌گرم بر کیلوگرم) که 15 کیلومتر نسبت به پالایشگاه فاصله دارد بدست آمد. به عبارتی غلظت این عنصر در این نقطه 28/8 درصد بیشتر از نقطه مبدا بود. تغییرات غلظت روی در گیاهان مسیر نمونه-



شکل 2- تغییرات غلظت روی در گیاه بارهنگ با فاصله از منابع آلاینده هوا. مسیر شماره یک، پالایشگاه شیراز و مسیر شماره دو، میدان امام حسین (ع) است

ها و در نهایت زردی برگ قابل مشاهده می‌باشد. در یک آزمایش مشاهده شد که مصرف 70، 40 و 60 کیلوگرم به ترتیب سولفات آهن، روی، مس و منگنز در هکتار در گیاه آفتابگردان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز را بین کم‌تر از 50 تا حدود 90 درصد افزایش داد (رحیمی‌زاده و همکاران، 2007). بر اساس کوفاکتور فلزی، سوپراکسید دیسموتازها به سه دسته Fe-SOD، Mn-SOD و Cu/Zn-SOD تقسیم می‌شوند که نوع آهن‌دار آن‌ها در کلروپلاست و منگنزدار در میتوکندری و نوع سوم آن‌ها در کلروپلاست، پراکسی‌زوم و سیتوزول واقع شده‌اند (دل ریو و همکاران، 1996).

برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز و پراکسیداز دارای آهن پورفیرین بوده که به‌عنوان گروه‌های پروستتیک، نقش ویژه‌ای را در متابولیسم گیاهی به ویژه در شرایط تنش-های محیطی از جمله آلودگی هوا ایفا می‌کنند (بلاک ریشمان، 2000). با در نظر گرفتن این نکته که در طول مسیر نمونه‌برداری با نزدیک شدن به منبع آلودگی هوا تعداد گیاهان دچار زردبرگی (کلروزه) بیشتر مشاهده شد (جدول 3) می‌توان نتیجه گرفت که به‌دلیل نقش آهن در مسیر بیوسنتز کلروفیل، کمبود آن در گیاهان علت اصلی زردبرگی برگ‌ها در این مناطق می‌باشد زیرا در شرایط کمبود آهن، کاهش غلظت این عنصر در گیاه اتفاق افتاده و به دنبال آن کاهش سنتز کلروفیل، صدمه به کلروپلاست-

جدول 3- تغییرات کیفی شدت زردبرگی بوته‌های بارهنگ با فاصله از منبع آلاینده هوا (مسیر شماره 1 و 2)

فاصله از منبع آلاینده (km)		مسیر شماره 1		مسیر شماره 2		مسیر شماره 2		مسیر شماره 1		مسیر شماره 2		
30	20	15	10	7	5	2	مبدأ	20	15	12	8	
10-15	15-20	15-20	10-15	< 10	10	10-15	< 10	< 10	10-15	10-15	> 15	> 15
شدت زردبرگی (درصد)												

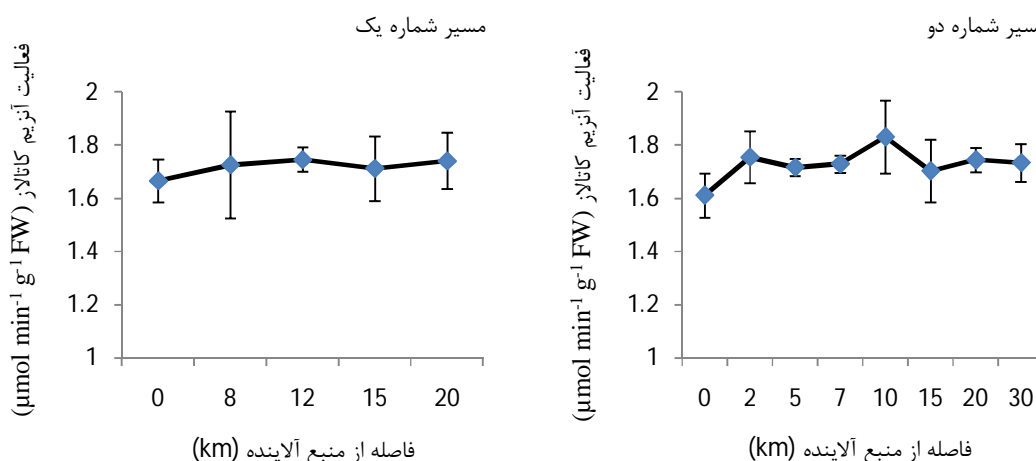
\* اعداد این جدول درصد برگ‌های بوته‌های بارهنگ که دچار زردبرگی بودند را نشان می‌دهد. مسیر شماره یک، پالایشگاه شیراز و مسیر شماره دو، میدان امام حسین (ع) است.

حسین (ع)) این مقدار به 1/742 و 1/832 رسید که در واقع 4/31 و 12/06 درصد افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان می‌دهد. همان‌طور که شکل 4 نشان می‌دهد فعالیت آنزیم پراکسیداز در بارهنگ با فاصله از منبع آلاینده هوا با یک افزایش نسبی روبرو است. بطوری‌که در پایان مسیر

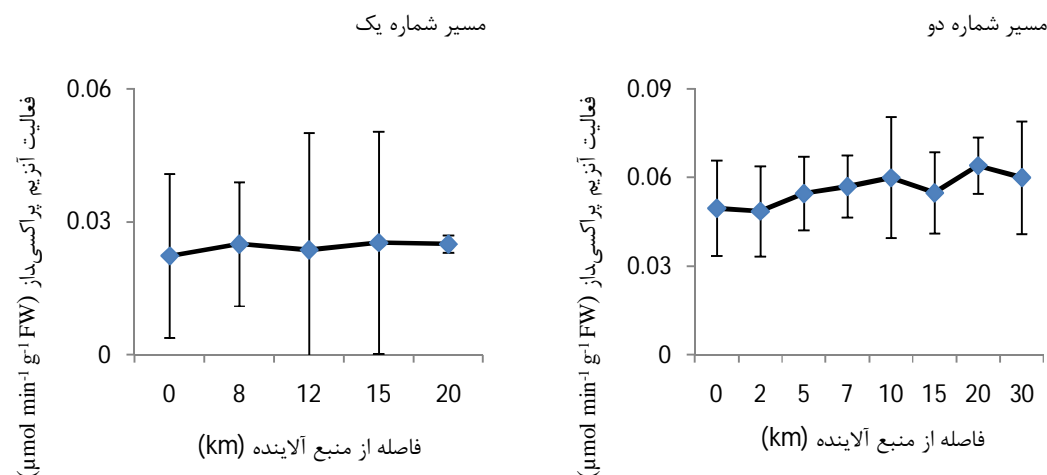
### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه

فعالیت آنزیم کاتالاز در بارهنگ در شرایط حضور آلاینده‌ها در هوا کاهش یافت (شکل 3). بطوری‌که در نمونه‌هایی که از اطراف پالایشگاه و میدان امام حسین (ع) تهیه شدند مقدار فعالیت این آنزیم به ترتیب 1/667 و 1/611 بدست آمد اما در باغ ملی (20 کیلومتری پالایشگاه) و بوستان علوی (10 کیلومتری میدان امام

نمونه‌برداری شماره 1 و 2 افزایشی معادل 12 و 16/67 درصد در فعالیت این آنزیم بدست آمد.



شکل 3- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه بارهنگ با فاصله از منابع آلاینده هوا. مسیر شماره یک، پالایشگاه شیراز و مسیر شماره دو، میدان امام حسین (ع) است



شکل 4- تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه بارهنگ با فاصله از منابع آلاینده هوا. مسیر شماره یک، پالایشگاه شیراز و مسیر شماره دو، میدان امام حسین (ع) است

فعالیت این آنزیم‌ها در گیاه افزایش یابد اما چون فعالیت این آنزیم‌ها در گیاه نیز تحت تأثیر غلظت آهن می‌باشد بنابراین، کاهش فعالیت آن‌ها در گیاه مشاهده شد. نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در شرایط کمبود آهن کاهش می‌یابد (سان و همکاران، 2007).

سلاما و همکاران (2009) گزارش کردند که فعالیت ایزوآنزیم‌های پراکسیداز در برگ‌های سویا و آفتابگردان در محلول غذایی فاقد آهن در فرآیند خشتی-ساز پراکسید هیدروژن کاهش یافت. بنابراین می‌توان

گیاهان برای کاستن از آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال دارای سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی هستند که شامل آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد (اگروال و پاندی، 2004). این آنزیم‌ها از مهم‌ترین آنزیم‌های خشتی‌کننده پراکسید هیدروژن در گیاهان هستند، آن‌ها حاوی آهن بوده و فعالیت‌شان احتمالاً تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد (شیگوکا و همکاران، 2002). همان‌طور که نتایج نشان داد، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در بارهنگ در شرایط حضور آلاینده‌ها در هوا کاهش یافت در حالی‌که انتظار می‌رود در شرایط تنش

یون منیزیم موجود در کلروفیل a گردیده بنابراین مولکول کلروفیل تخریب و به فایوفیتین تبدیل می‌شود اما کلروفیل b بدلیل تجزیه گروه فیتول درون کلروفیل به کلروفیلید تغییر می‌یابد (کومار و همکاران، 2012). از طرفی برخی از محققان معتقدند که  $\text{SO}_2$  از طریق روزه‌ها وارد گیاه شده و در سلول‌های گیاهی تولید یون‌های  $\text{H}^+$ ،  $\text{HSO}_3^-$  و  $\text{SO}_3^{2-}$  می‌نماید سپس بیشتر این یون‌ها در کلروپلاست‌ها به یون سولفات تبدیل می‌شوند که این تغییرات باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست می‌گردد. تشکیل این مواد سمی سبب کاهش فردوکسین در فتوسیستم یک<sup>1</sup> شده و با توجه به نقش آن در فتوستنز می‌توان نتیجه گرفت که فتوستنز در شرایط آلودگی هوا کاهش می‌یابد (زنوگا و پالیوال، 1995).

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، کاهش غلظت آهن و نیز کم شدن فعالیت آنزیم‌های پرکسیداز و کاتالاز که وابسته به آهن می‌باشند در گیاه بارهنگ با نزدیک شدن به هر دو منبع آلودگی هوا، میدان امام حسین (ع) و پالایشگاه شیراز مشاهده شد. این تغییرات بیانگر لزوم توجه بیشتر به تغذیه آهن گیاهان در معرض آلودگی هوا می‌باشد. ضمن این که بنظر می‌رسد با بهبود وضعیت آهن گیاه، تحمل شرایط آلودگی نیز افزایش می‌یابد اگرچه مطالعات تکمیلی برای درک بهتر تغییرات فیزیولوژی آهن در شرایط آلودگی هوا لازم است.

هرچند عوامل مختلفی از جمله برخی ویژگی‌های خاک ممکن است در این زمینه تأثیر گذار باشند اما همان‌طور که جدول خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها (جدول 2) نشان می‌دهد تفاوت چندانی بین خصوصیات خاک‌ها مشاهده نمی‌شود. ضمن این که در چنین مطالعاتی، که در سال‌های اخیر به ویژه در رابطه با بررسی ارتباط آلودگی هوا و برخی عارضه‌های حاصل در جامعه زیستی شامل گیاه، ریزجانداران و انسان انجام شده، هدف اصلی دست یافتن به شاخص‌های زیستی<sup>2</sup> آلودگی می‌باشد. در واقع، در این مطالعات، ارتباط بین آلودگی با برخی صفات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی و حتی تغذیه‌ای مشخص می‌شود و در مطالعات بعدی، به طور دقیق مکانیزم‌های اثرگذاری آلودگی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. همچنان که در مطالعه حاضر، تأثیر آلودگی هوا بر وضعیت آهن و مخزن فعال از لحاظ فیزیولوژیکی این عنصر مشخص شد و در مطالعه دیگری در شرایط کنترل شده و در واحدهای

بیان نمود که در گیاهان، مهم‌ترین آنزیم‌های خشی‌کننده پراکسید هیدروژن، یعنی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، آنزیم‌های حاوی عنصر آهن هستند. عناصر کم‌مصرف نقش مهمی را به‌عنوان کوفاکتور در ساختمان تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایفا می‌نمایند. بنابراین هنگامی که گیاهان با کمبود این عناصر مواجه باشند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش یافته و حساسیت به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد از طرفی تنش اکسیداتیو باعث کاهش تولید کلروفیل می‌شود که پیامد آن آسیب به دستگاه فتوستنزی است (کورپاس و همکاران، 1998).

### غلظت کلروفیل در گیاه

همان‌طور که شکل 5 نشان می‌دهد با دورتر شدن از منبع آلاینده‌ها در مسیر نمونه‌برداری شماره 1 غلظت کلروفیل a در بارهنگ افزایش یافته است. بطوری که در محدوده دانشکده کشاورزی این غلظت 1/558 میلی‌گرم بر گرم اما در شهرک زیباشهر که نسبت به دانشکده کشاورزی 7 کیلومتر فاصله دارد 2/331 میلی‌گرم بر گرم اندازه‌گیری شد. همچنین غلظت کلروفیل b و کاروتنوئید در گیاهان شهرک زیباشهر نسبت به دانشکده کشاورزی به ترتیب 14/06 و 25/41 درصد افزایش نشان می‌دهد (شکل 5). اطلاعات بدست آمده بیانگر این مطلب است که غلظت‌های کلروفیل a و b و کاروتنوئید در بوته‌های بارهنگ در مسیر نمونه‌برداری شماره 2، با فاصله از ترافیک میدان امام حسین (ع)، از روند خاصی تبعیت نمی‌کند.

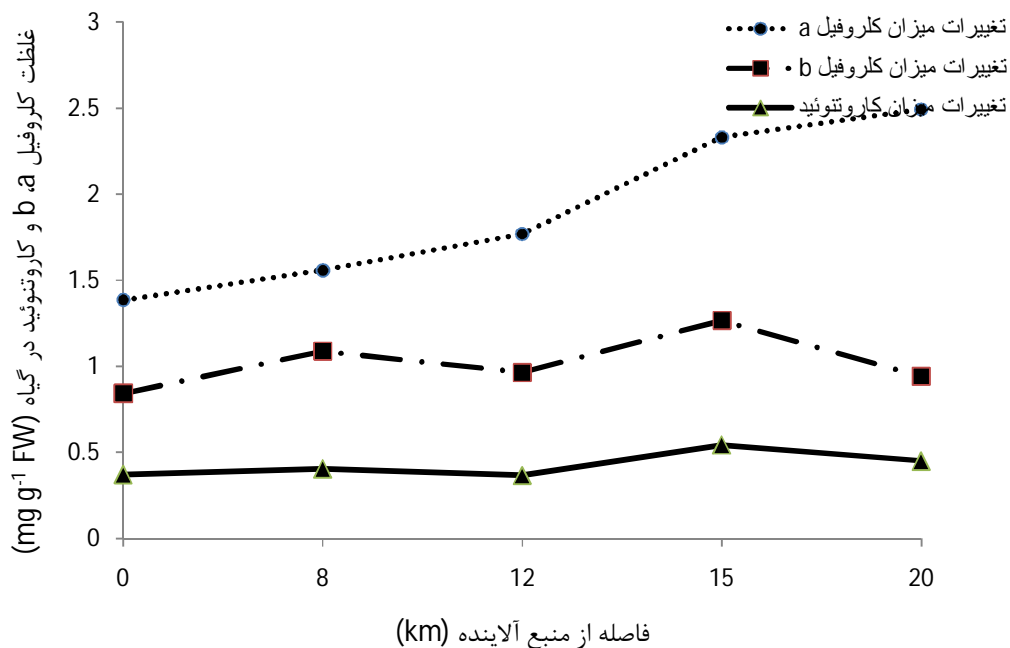
نتایج این تحقیق همانند آزمایش‌های دیگر (سینگ و همکاران، 2005) همبستگی از نوع منفی بین غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه با غلظت آلاینده‌های موجود در هوا را نشان می‌دهد. تحقیقات خان و خان (1994) نشان داد که گیاهانی که در معرض آلاینده‌های  $\text{O}_3$  و  $\text{SO}_2$  قرار گرفته‌اند در تمام غلظت‌ها مقدار رنگدانه‌های برگ کاهش یافت. ورما و آگراوال (2001) نیز نتیجه گرفتند که آلاینده‌های هوا سبب کاهش غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه گندم گردید اما میزان کاهش کلروفیل نسبت به کاروتنوئید بیشتر بود. در یک آزمایش مشاهده گردید که غلظت 3918 میکروگرم  $\text{SO}_2$  بر متر مکعب بر روی برگ‌های 60 روزه سبب کاهش 58/33 و 39/73 درصد به ترتیب در غلظت کلروفیل a و b گردید که علت آن بدین صورت بیان شده که  $\text{SO}_2$  بعد از وارد شدن به برگ از طریق روزه‌ها با کمک آب موجود در برگ به اسید سولفورو تبدیل سپس این اسید به یون‌های  $\text{H}^+$  و  $\text{HSO}_3^-$  تجزیه شده و یون‌های هیدروژن آزاد جایگزین

<sup>1</sup> Photosystem I

<sup>2</sup> Bioindicators



جداگانه رشد، تأثیر آلودگی ناشی از دی‌اکسید گوگرد بر فیزیولوژی آهن در گیاه بررسی شده است.



شکل 5- تغییرات غلظت کلروفیل a, b و کاروتنوئید در گیاه بارهنگ با فاصله از پالایشگاه شیراز بعنوان منبع آلاینده هوا

#### فهرست منابع:

1. Agarwal, S., and V. Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*. 48: 555- 560.
2. Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agron. J.* 23: 112-121.
3. Blakrishman, K. 2000. Peroxidase activity as an indicator of the iron deficiency banana. *Indian J. Plant Physiol.* 5: 389- 391.
4. Britton, C., and A. C. Mehley. 1955. Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.), *Methods in Enzymology*, vol. II. Academic press, New York, pp. 764-775.
5. Coleman, J. S., H. A. Mooney, and J. N. Gorham. 1989. Effects of multiple stresses on radish growth and resource allocation I. Responses of wild radish plants to a combination of SO<sub>2</sub> exposure and decreasing nitrate availability. *Oecologia*. 81, 124-131.
6. Corpas, F. J., L. M. Sandalio, L. A. Del Rio, and R. N. Trelease. 1998. Copper-zinc superoxide dismutase is a constituent enzyme of the matrix of peroxisomes in the cotyledons of oilseed plants. *New Phytologist*. 138: 307- 314.
7. Del Rio, L. A., J. M. Palma, L. M. Sandalio, F. J. Corpas, G. M. Pastori, P. Bueno, and E. Lopez-Huertas. 1996. Peroxisomes as a source of superoxide and hydrogen peroxide in stressed plants. *Biochem. Soc. Transac.* 24: 434- 438.
8. Iturbe-Ormaetxe, I., J. F. Moran, C. Arrese-Igor, Y. Gogorcena, R. V. Klucas, and M. Becana. 1995. Activated oxygen and antioxidant defenses in iron-deficient pea plants. *Plant, Cell and Environ.* 18: 421- 429.
9. Jones, J. B. 1984. Plants. In: Williams, S. (ed.). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. pp: 38-64. Arlington, Virginia, USA.

10. Khan, M. R., and M. W. Khan. 1994. Single and interactive effect of O<sub>3</sub> and SO<sub>2</sub> on Tomato. *Environ. Exper. Bot.* 34 (4): 461– 469.
11. Kumar, M., M. Anjali, M. Narayan, S. Chaudhary, and K. Pal. 2012. Effect of sulphur dioxide on plant chlorophyll on the family of Brassicaceae. *Intern. J. Pharm. Profes. Res.* 3: 605- 609.
12. Lombardi, L., L. Sebastiani, and C. Vitagliano. 2003. Physiological, biochemical, and molecular effects of in vitro induced Iron deficiency in Peach rootstock Mr.S 2/5. *J. Plant Nutr.* 26: 2149– 2163.
13. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press London. pp. 313-323.
14. Radtke, K., R. W. Byrnes, P. Kerrigan, W. E. Antholine, and D. H. Petering. 1992. Requirement for endogenous iron cytotoxicity caused by hydrogen peroxide in *Euglena gracilis*. *Marine Environ. Res.* 34: 339– 343.
15. Rahimizadeh, M., D. Habibi, H. Madani, G. N. Mohammadi, A. Mehraban, and A. M. Sabet. 2007. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Helia.* 30: 167- 174.
16. Rai, A., and K. Kulshreshtha. 2006. Effect of particulates generated from automobile emission on some common plants. *Eco Education Division J. Food, Agric. Environ.* 4 (1): 253– 259.
17. Rajput, M., and M. Agrawal. 1994. Responses of soybean plants to sulphur dioxide at varying soil fertility regimes. *Biotronics.* 23, 81– 92.
18. Renuga, G., and K. Paliwal. 1995. Detoxification of SO<sub>2</sub> derivatives in chloroplasts of *Hardwickia binata*. *J. Bios.* 20 (1): 59– 68.
19. Salama, Z. A. E., H. S. El-Beltagi, and D. M. El-Hariri. 2009. Effect of Fe deficiency on antioxidant system in leaves of three flax cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca.* 37 (1): 122- 128.
20. Shigeoka, S., T. Ishikawa, M. Tamoi, Y. Miyagawa, T. Takeda, and Y. Yabuta. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 53: 1305- 1319.
21. Singh, A., S. B. Agrawal, and D. Rathore. 2003. Growth responses of wheat (*Triticum aestivum* L. var. HD 2329) exposed to ambient air pollution under varying fertility regimes. *Sci. Word J.* 3, 799– 810.
22. Singh, A., S. B. Agrawal, and D. Rathore. 2005. Amelioration of Indian urban air pollution phytotoxicity in *Beta vulgaris* L. by modifying NPK nutrients. *Environ. Pollu.* 34: 358- 395.
23. Stocking, C. R. 1975. Iron deficiency and the structure and physiology of Maize chloroplasts. *Plant Physiol.* 55: 626- 631.
24. Sun, B., Y. Jing, K. Chen, L. Song, F. Chen, and L. Zhang. 2007. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.). *J. Plant Physiol.* 164: 536- 543.
25. Swanepoel, J. W., G. H. J. Kruger, and P. D. R. Van Heerden. 2007. Effects of sulphur dioxide on photosynthesis in the succulent *Augea capensis* Thunb. *J. Ari. Environ.* 70: 208– 221.
26. Verma, M., and M. Agrawal. 2001. Response of wheat plants to sulfur dioxide and herbicide interaction at different fertility regimes. *J. Indian Bot. Soc.* 80: 67– 72.