

# اثر آلاینده‌های ناشی از سوختن بنزین بر برخی خصوصیات آناتومیکی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی اسفناج

امین کهن<sup>۱</sup>، مریم حقیقی<sup>۲\*</sup>، محمدحسین اهتمام<sup>۳</sup>، نورا... میرغفاری<sup>۴</sup>

۱ دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان. kohanamin@yahoo.com

۲ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۳ استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان. hehtemam@cc.iut.ac.ir

۴ دانشیار گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان. mnorolah@cc.iut.ac.ir

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۱/۱۵

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۶/۰۷/۰۷

## چکیده

آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان بر روی گیاهان اسفناج، در سه دوره زمانی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز در معرض آلاینده‌های ناشی از سوختن بنزین انجام گرفت و صفات آناتومیکی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی آن‌ها پس از پایان اعمال تیمارها مقایسه شد. قرار گرفتن ۱۰ روزه اسفناج در برابر آلاینده‌ها، سبب افزایش معنادار کلروفیل کل و بهبود فتوسنتز شد. گیاهانی که به مدت ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته بودند، افزایش معناداری در آنتی‌اکسیدان، پرولین، نشت یونی و تعداد روزنه در واحد سطح را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند؛ اما میزان کلروفیل کل، کارتنوئید، نرخ فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل فلورسانس، محتوای نسبی آب برگ، وزن تر و خشک و طول روزنه کاهش معنادار نشان داد. منفذ روزنه اسفناجی که ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند، به دلیل بسته شدن روزنه در اثر آلاینده‌ها کوچکتر شدند. مواجهه گیاهان اسفناج با آلاینده‌ها به خصوص مواجهه ۳۰ روزه، سبب بروز واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و آناتومیکی شد که می‌توان این واکنش‌ها را به‌عنوان سازگاری این گیاه در برابر تنش آلودگی و در نتیجه زنده ماندن گیاه در شرایط تنش آلودگی در نظر گرفت.

## کلیدواژه

اسفناج، آلاینده، خصوصیات آناتومیکی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی

## مقدمه

ثانویه مانند ازن، باعث آثار جدی زیست محیطی و بهداشتی می‌شوند (Kammerbauer & Dick., 2000). آلودگی هوا یکی از مشکلات اساسی در کلان شهرها بوده و کیفیت هوای شهر، تحت تأثیر خروج گازهای آلاینده از منابع متحرک و ثابت است که باعث تأثیر منفی بر روی سلامت انسان، حیوانات و گیاهان می‌شود (Uaboi-Egbenni et al., 2009). زمین‌های کشاورزی که در مجاورت مناطق شهری

با توجه به نوع سوخت، گازهای اصلی خروجی آگروز، اکسیدهای نیتروژن (NO<sub>x</sub>)، اکسیدهای کربن، اکسیدهای گوگرد (SO<sub>x</sub>)، ذرات کربن، فلزات سنگین، بخار آب و هیدروکربن‌ها از جمله آلدئیدها، هیدروکربن‌های تکی و هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک، الکل‌ها، اولفین‌ها و آلکیل نیتریل‌ها هستند که در کنار تعدادی از آلاینده‌های

روزنه و روزنه بسته بیشتر از مناطق شاهد بود. عرض روزنه و طول منفذ روزنه در منطقه آلوده در هر دو گیاه *Tabernaemontana L.* و *Hamelia patens Jacq Aquil* در مقایسه با تیمار کنترل کاهش یافت. (et al., 2003).

Naidoo و Chirkoot (۲۰۰۴) مشاهده کردند که در منطقه آلوده، تبادل گازها در سطح برگ گیاه *Avicennia marina* تحت تأثیر هوای آلوده کاهش یافت. آلودگی هوا، موجب افزایش معنادار پراکسیداسیون غشا در گونه گیاهی اسطوخودوس (*Lavandula officinalis Chaix.*) و برگ نو (*Ligustrum vulgare L.*) کاشته شده در حاشیه خیابان‌های مناطق آلوده و پاک تهران شد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) در درجات مختلفی در مناطق آلوده نسبت به مناطق پاک افزایش یافت (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۸). آلاینده‌های وسایل نقلیه، فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد و سبب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Patidar et al., 2016). تحقیقات بسیار اندکی در رابطه با اثر آلاینده‌های خودرو بر روی سبزیجات برگی به خصوص اسفناج انجام گرفته است. نظر به این که حجم چشمگیری از کشت اسفناج، به خصوص در ایران، در فضای آزاد و در کنار جاده‌ها و یا مکان‌های آلوده شهری انجام می‌شود، برای آگاهی از تأثیرات این نوع آلاینده‌ها بر ویژگی‌های ظاهری و فیزیولوژیکی این گیاه، اقدام به بررسی آثار آلاینده‌های خودرو، بر روی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه اسفناج شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. ۱۲ واحد گلخانه کوچک (طول: ۱۰۰ سانتی‌متر، عرض ۷۰ سانتی‌متر و ارتفاع: ۷۰ سانتی‌متر) و کوره اعمال‌کننده آلاینده به‌منظور

هستند، به‌طور فزاینده‌ای در معرض آلاینده‌های ناشی از وسایل نقلیه هستند. گیاهان، صدمات زیادی از آلودگی ناشی از گازهای خروجی آگزوز خودروها متحمل می‌شوند؛ چون نمی‌توانند از منبع آلودگی به جای دیگر جابه‌جا شوند. به همین دلیل، این احتمال وجود دارد، گیاهانی که در معرض چنین آلودگی‌هایی قرار دارند، اختلالات بسیاری در ظاهر کلی خود نشان دهند که به‌عنوان «آسیب قابل مشاهده» از آن یاد می‌شود. در واقع این آسیب‌های قابل مشاهده بر روی گیاه، منعکس‌کننده تغییرات فیزیولوژیکی است که توسط آلاینده‌ها به‌وقوع می‌پیوندد. این تغییرات فیزیولوژیکی ممکن است به‌عنوان «آسیب‌های پنهان» در نظر گرفته شود (Mandal & Mukherji., 2000). نگرانی در مورد ترکیبات آلاینده‌ها وجود دارد، زیرا شواهدی وجود دارد که پاسخ گیاه به مخلوط چند آلاینده، ممکن است با پاسخ گیاه به آلاینده‌ای متفاوت باشد. به‌طور مثال یک ساعت قرار گرفتن در معرض ترکیبی از گازهای  $SO_2$  به میزان ۱۳۱۰ میکروگرم بر مترمکعب و  $NO_2$  با غلظت ۹۴۰ میکروگرم بر مترمکعب، به آسیب برگی اندک انجامید، در حالی که هیچ‌یک از گازها به تنهایی، در این غلظت‌ها سبب ایجاد آسیب نشدند (Kostka-Rick & Mannin., 1993). گیاهان مختلف، نسبت به آلودگی هوا، حساسیت‌های متفاوتی نشان می‌دهند و تحت تأثیر سوء آلاینده‌ها، دچار کمبود رشد و اختلال در رفتارهای بیولوژیکی می‌شوند و در برابر تنش‌های محیطی، با مکانیسم‌های دفاعی، شانس خود را برای بقاء افزایش می‌دهند (Capelo et al., 2012). گزارش‌های زیادی مبنی بر آثار آلاینده‌ها بر آناتومی، فیزیولوژی و مورفولوژی گونه‌های مختلف گیاهان وجود دارد (Tiwari et al., 2006; Ahmad et al., 2003). اهمیت روزنه در حفاظت گیاهان در برابر آلاینده‌های هوا بررسی شده و نشان داده شد که بسته شدن روزنه‌ها، به حفاظت گیاهان در برابر آسیب آلودگی کمک می‌کند (Majernik & Mansfield., 1970). نتایج بررسی نشان داد که در منطقه آلوده، تعداد

۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید قرائت شد (Lichtenhaler, 1987). میزان فلورسانس کلروفیل، توسط دستگاه فلورسانس کلروفیل متر (مدل OS-30P ساخت شرکت Opti-science انگلستان) اندازه‌گیری شد و نسبت Fv/Fm (بازده فوتوشیمیایی فوتوسیستم دو) گزارش شد. فاکتورهای مربوط به تبادلات گازی برگ توسط دستگاه قابل حمل اندازه‌گیری فتوستنز (مدل LCi ساخت شرکت ADC Bioscientific Ltd انگلستان) در برگ کاملاً توسعه یافته در هر تکرار اندازه‌گیری شد. میزان پرولین با استفاده از روش Bates اندازه‌گیری شد و قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر صورت گرفت (Bates et al., 1973). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش تغییر یافته و اصلاح شده Aebi (۱۹۸۴) و با ردیابی اسپکتوفوتومتری تجزیه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش تغییر یافته و اصلاح شده به صورت اسپکتروفوتومتری و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر تخمین زده شد (Nakano & Asada, 1981). سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Maehly و Chance با کمی تغییر تعیین شد (Chance & Maehly, 1955). صفات آناتومیکی توسط میکروسکوپ نوری مشاهده و از طریق نرم‌افزار Edn-2، طول روزنه اندازه گرفته شد. برای مشاهده آوند چوبی، آبکش و سلول‌های پارانشیم، از روش رنگ‌آمیزی مضاعف استفاده شد. آنالیز آماری داده‌های مربوط به تمامی صفات، به کمک نرم‌افزار آماری Statistix 8 و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنادار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

انتقال آلاینده‌های ناشی از سوختن بنزین ساخته شد. بذور اسفناج رقم *Spinacia oleracea var. viroflay* به‌طور مستقیم در گلدان‌های سطلی شماره ۴ که با آمیخته ماسه و خاک با نسبت ۱:۲ پر شده بودند کشت شدند. بافت خاک پس از انجام آزمایش لومی شنی تعیین شد که pH آن ۶/۳۲ و EC آن برابر با ۶۷۱ میکروزیمنس بر متر گزارش شد. میزان شن گزارش شده ۶۸/۰۵ درصد، میزان رس ۱۷ درصد و میزان سیلت آن ۱۴/۹۵ درصد نشان داده شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل گازهای خروجی و تعیین میزان غلظت آلاینده‌های ناشی از سوختن بنزین، از دستگاه VARIOPLUS MRU استفاده شد. غلظت‌های آلاینده‌های ناشی از سوختن بنزین، طبق جدول ۱ بود.

گیاهچه‌های اسفناج در مرحله ۴ برگگی یک بار صبح و یک بار بعدازظهر در معرض آلاینده‌ها به مدت سه ساعت (براساس پیک ساعات آلودگی هوای شهری) قرار می‌گرفتند و پس از این سه ساعت، برای تهیه، پوشش پلاستیکی گلخانه برداشته می‌شد. گلخانه‌های اسفناج در سه سطح زمانی مختلف و به‌صورت جداگانه به مدت ۱۰ روز، ۲۰ روز و ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها با غلظت‌های ذکر شده قرار می‌گرفتند و پس از پایان دوره اعمال آلاینده، اقدام به اندازه‌گیری پارامترهای مورد اندازه‌گیری شد و با گیاهان شاهد همان سطح که در معرض آلاینده‌ها نبودند مقایسه شدند. به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، از روش Ritchie و همکاران (۱۹۹۰)، میزان نشت یونی به روش Lutts انجام شد (Lutts et al., 1995). میزان کلروفیل کل و کارتنوئید برگ‌ها به روش لیشتتالار توسط حلال استون صد در صد استخراج شد و میزان جذب نور در دو طول موج ۶۶۱/۶ و ۶۴۴/۸ برای کلروفیل کل و

جدول ۱. تجزیه و تحلیل گازهای خروجی از کوره و غلظت آن‌ها

O <sub>2</sub> (%)	CO (ppm)	CH <sub>4</sub> (mg/m <sup>3</sup> )	CO <sub>2</sub> (%)	SO <sub>2</sub> (ppm)	Nox (ppm)	NO <sub>2</sub> (ppm)	NO (ppm)	گاز خروجی
۲۰	۱۰۵±۱۰	۷	۰/۷	۳±۲۲	۱	۱	۰	غلظت

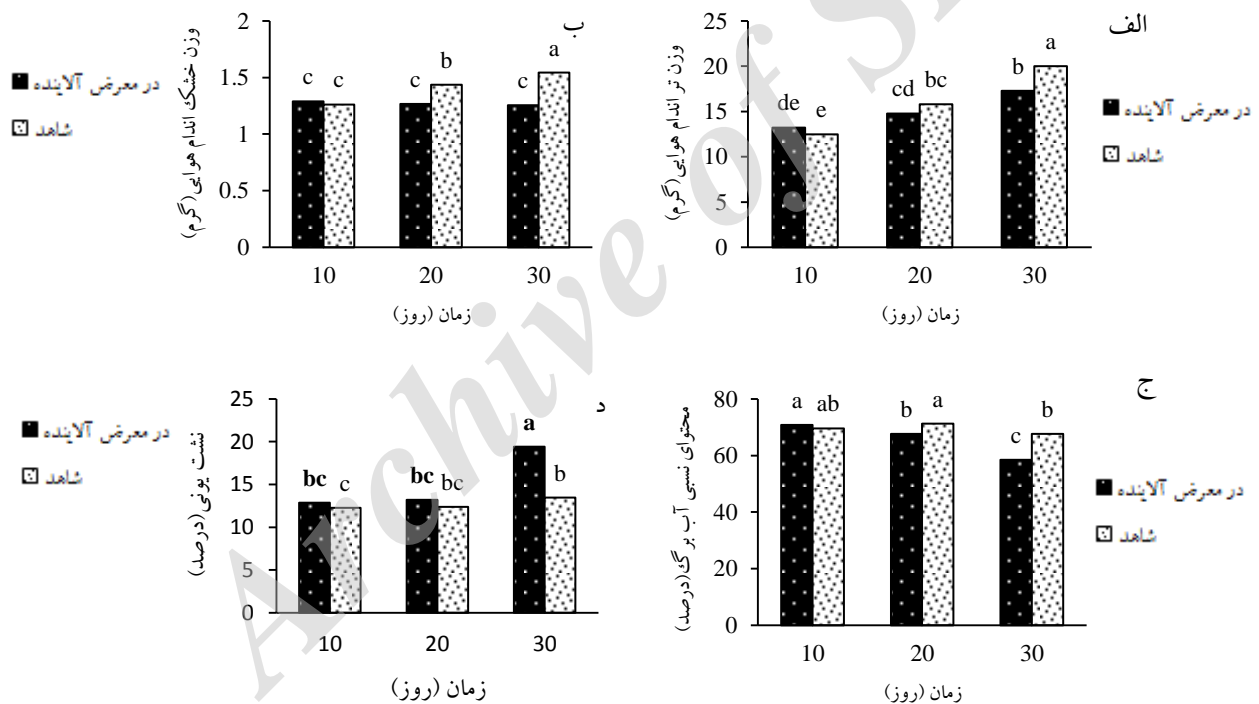
نتایج

اثر آلاینده‌های خودرو بر صفات مورفولوژیکی و

فیزیولوژیکی اسفناج

وزن تر و خشک اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ و نشت یونی، تحت تأثیر آلاینده‌ها در زمان‌های مختلف قرار گرفتند؛ به طوری که وزن تر اندام هوایی گیاهانی که ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته بودند کاهش معنادار ۱۳/۴۹ درصدی (شکل ۱ - الف)، و وزن خشک گیاهانی که به ترتیب ۲۰ و ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته

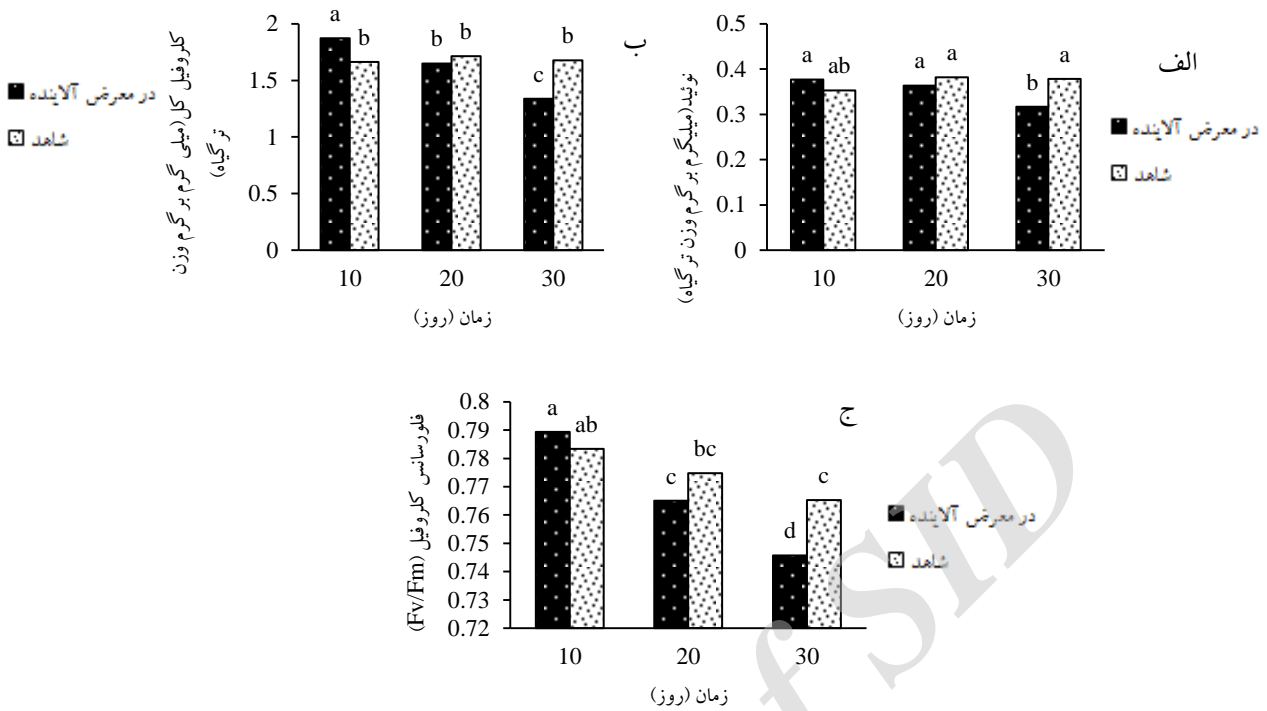
بودند کاهش معنادار ۱۱/۶۷ و ۱۸/۶۰ درصدی (شکل ۱- ب) نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. میزان محتوای آب نسبی برگ در زمان‌های ۲۰ و ۳۰ روز به ترتیب ۴/۹۷ و ۱۳/۵۴ درصد کاهش معنادار نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (شکل ۱- ج). در بین ۳ زمان اعمال آلاینده، بیشترین افزایش نشت یونی نسبت به گیاهان شاهد، مربوط به گیاهانی بود که ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند (شکل ۱- د).



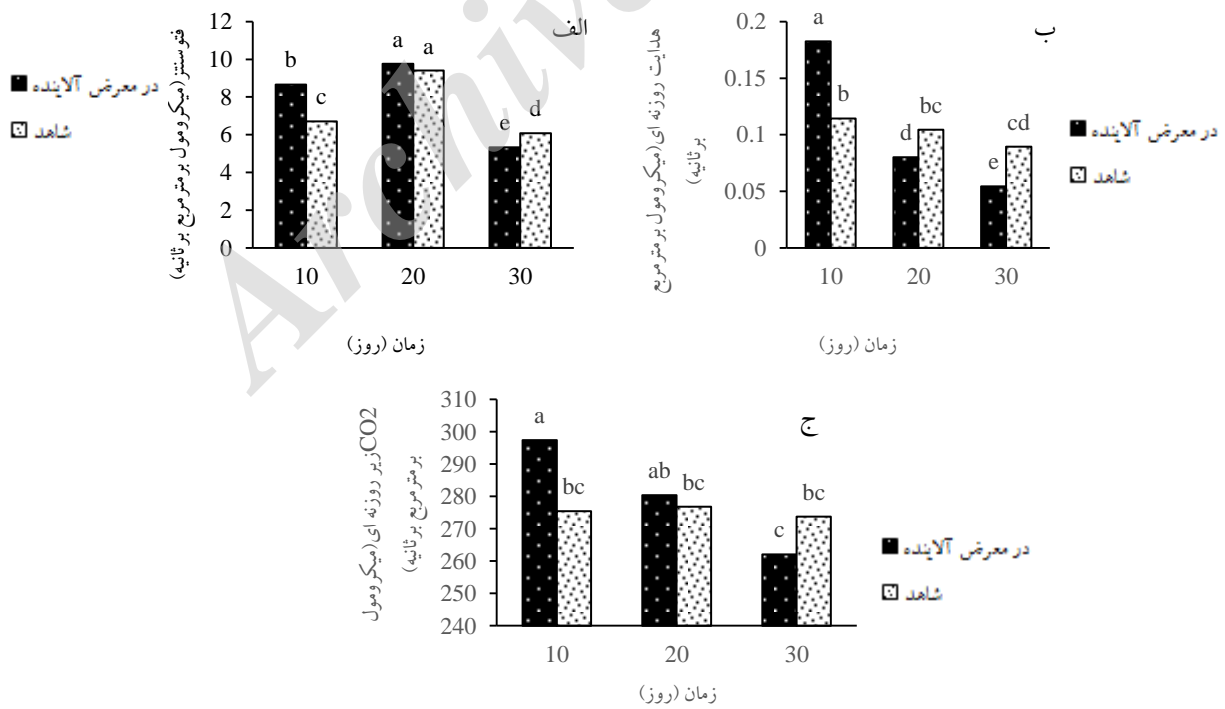
شکل ۱. اثر متقابل میزان آلاینده و زمان مواجهه با آلاینده بر وزن تر اندام هوایی (الف)، وزن خشک اندام هوایی (ب)، میزان محتوای آب نسبی (ج)، نشت یونی (د).

روزه گیاهان اسفناج با آلاینده‌ها سبب افزایش معنادار محتوای کلروفیل نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۲- الف). مواجهه ۲۰ روزه گیاهان با آلاینده‌ها، تغییر معناداری در هیچ کدام از صفات نشان نداد.

محتوای کلروفیل کل، کارتنوئید و میزان فلورسانس کلروفیل گیاهان اسفناجی که به مدت ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته بودند، نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنادار نشان دادند (شکل ۲- الف، ب و ج). مواجهه ۱۰



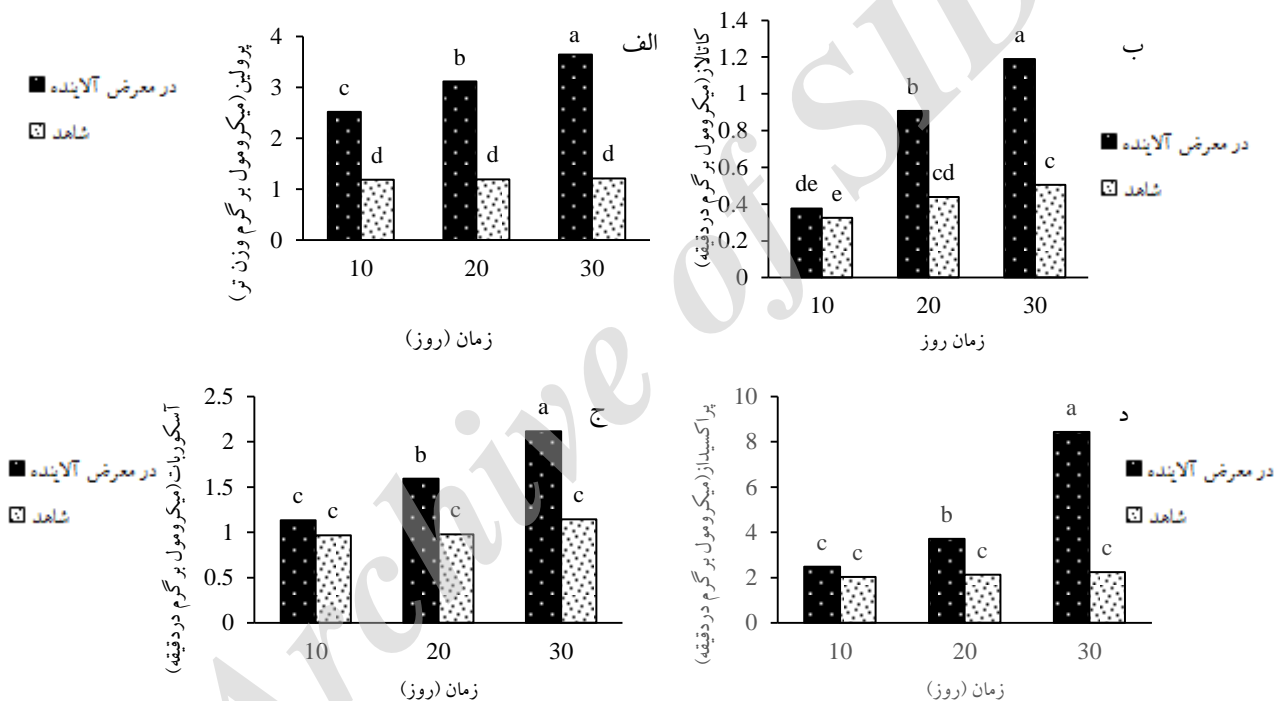
شکل ۲. اثر متقابل میزان آلاینده و زمان مواجهه با آلاینده بر میزان کلروفیل کل (الف)، کارتنوئید (ب) فلورسانس کلروفیل (ج).



شکل ۳. اثر متقابل میزان آلاینده و زمان مواجهه با آلاینده بر میزان فتوسنتز (الف)، هدایت روزنه‌ای (ب) دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای (ج).

افزایش معنادار در میزان پرولین گیاهان اسفناج قرار گرفته در معرض آلاینده در هر سه زمان مواجهه، نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۴- الف). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهان اسفناج طی مواجهه ۳۰ روزه با آلاینده‌ها (شکل ۴- ب)، و فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (شکل ۴- ج) و گایاکول پراکسیداز (شکل ۴- د) گیاهان طی مواجهه ۲۰ و ۳۰ روزه، نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنادار نشان داد.

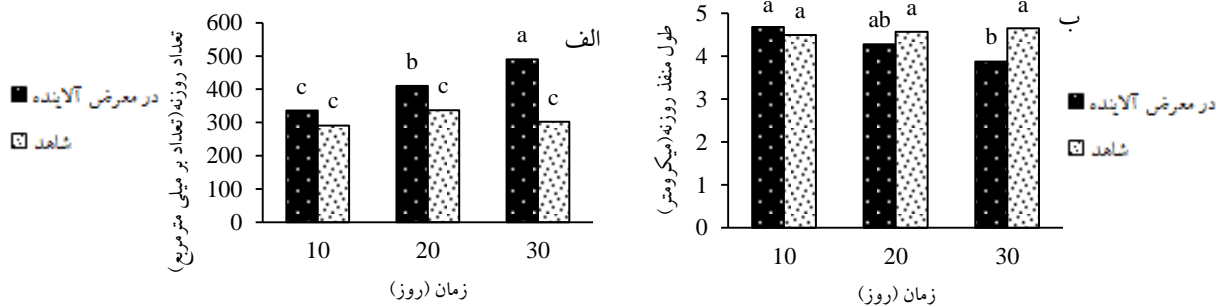
فاکتورهای مربوط به تبدلات گازی برگ تحت تأثیر آلاینده‌ها در زمان‌های مختلف قرار گرفت. میزان فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای و دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای در گیاهانی که به مدت ۱۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته بودند، نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنادار یافت اما مواجهه ۳۰ روزه گیاهان با آلاینده‌ها، سبب کاهش معنی‌دار این صفات شد (شکل ۳- الف، ب و ج). میزان هدایت روزنه‌ای در گیاهان ۲۰ روز ۲۳/۲۹ درصد نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنادار یافت (شکل ۳- ب).



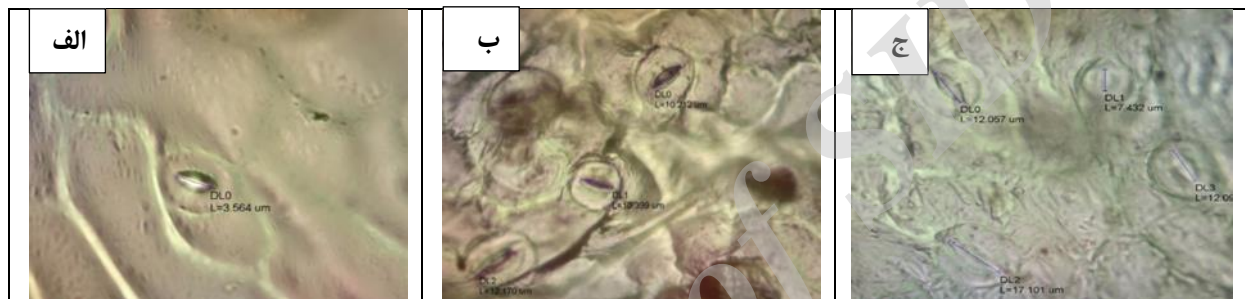
شکل ۴. اثر متقابل میزان آلاینده و زمان مواجهه با آلاینده بر میزان پرولین (الف)، فعالیت آنزیم کاتالاز (ب)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (ج)، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (د).

معناداری در طول روزنه مشاهده نشد (شکل ۵- ب). دهانه روزنه نیز تحت تأثیر آلاینده‌ها در زمان‌های مختلف قرار گرفت به طوری که ۵ دهانه روزنه در گیاهان شاهد اسفناج و گیاهان اسفناجی که کمترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند کاملاً باز است (شکل ۶- الف و شکل ۶- ب). اما دهانه روزنه در گیاهان اسفناجی که بیشترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند، بازشدگی بسیار کمتری دارد (شکل ۶- ج).

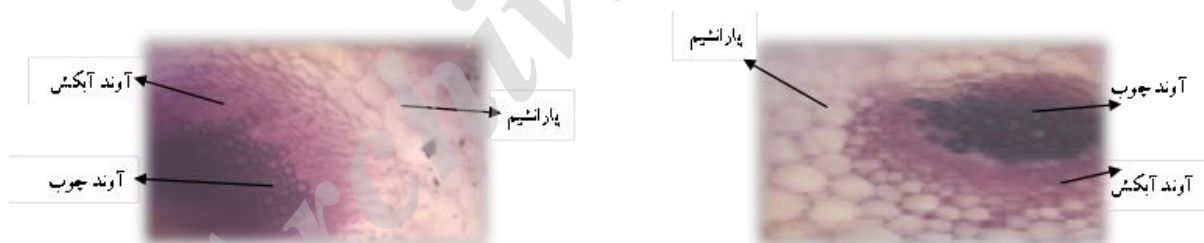
اثر آلاینده‌های خودرو بر صفات آناتومیکی اسفناج صفات مربوط به تعداد و طول روزنه تحت تأثیر آلاینده‌ها در زمان‌های مختلف قرار گرفت. تعداد روزنه گیاهانی که به مدت ۲۰ و ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته بودند، افزایش معنادار ۲۱/۵۵ و ۶۲/۲۰ درصدی نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند (شکل ۵- الف). طول روزنه گیاهان طی مواجهه ۳۰ روزه با آلاینده‌ها، کاهش معنادار نسبت به گیاهان شاهد نشان داد اما در سایر زمان‌ها تغییر



شکل ۵. اثر متقابل میزان آلاینده و زمان مواجهه با آلاینده بر تعداد روزنه (الف)، طول منفذ روزنه اپیدرم بالایی (ب).



شکل ۶. تصویر میکروسکوپی روزنه گیاهان شاهد اسفناج با بزرگنمایی  $40\times$  (الف)، روزنه اسفناج قرار گرفته در معرض آلاینده به مدت ۱۰ روز با بزرگنمایی  $40\times$  (ب)، روزنه اسفناج قرار گرفته در معرض آلاینده به مدت ۳۰ روز با بزرگنمایی  $40\times$  (ج).



شکل ۷. تصویر آوند چوب، آبکش و پارانثیم اسفناج قرار گرفته در معرض آلاینده به مدت ۳۰ روز با بزرگنمایی  $40\times$  (الف) به مدت ۱۰ روز با بزرگنمایی  $40\times$  (ب).

درصد نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنادار یافت. کاهش وزن تر ساقه، ممکن است به علت ممانعت از تشکیل کلروفیل و آسیب بافت برگگی باشد (Chauhan, 2010). قربانی و همکاران (۱۳۸۶) نشان دادند که در حضور آلاینده‌های هوا، وزن تر و خشک برگ‌ها در اقایا و خرزهره به‌طور معناداری کاهش یافت. مواد سمی در دود، سبب کاهش میزان رشد و در نتیجه وزن گیاهان گوجه‌فرنگی شد که در معرض منبع تولید کننده دود قرار

تفاوت معناداری بین آوند چوب، آبکش و پارانثیم گیاهان اسفناجی که بیشترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها داشتند (شکل ۷-الف) با گیاهانی که کمترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند (شکل ۷-ب) مشاهده نشد.

## بحث

وزن تر و وزن خشک اندام هوایی گیاهان اسفناج طی مواجهه ۳۰ روزه با آلاینده‌ها، به ترتیب ۱۳/۴۹ و ۱۸/۶۰

نامطلوب آلاینده‌های هوا بر روی غشاهای سلولی انجام شده است که نتایج به‌دست آمده از این پژوهش را تأیید می‌کنند (Tomassini et al., 1977). میزان نشت یونی در برگ‌های گیاهان *Brachylaena discolor* که نزدیک‌ترین فاصله را به مناطق آلوده صنعتی داشتند، بیشتر از گیاهان شاهد بود (Areington et al., 2015).

محتوای کلروفیل همه گیاهان اسفناج که بیشترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند (۳۰ روز)، نسبت به گیاهان شاهد ۲۰/۲۱ درصد کاهش معنادار نشان داد. کاهش در غلظت کلروفیل، ممکن است به علت افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز باشد که به نوبه خود، غلظت کلروفیل در گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mandal & Mukherji, 2000). کاهش میزان کلروفیل تحت تنش آلودگی وسایل نقلیه، به‌طور عمده ناشی از آسیب به کلروپلاست در اثر گونه‌های اکسیژن فعال است (Patidar et al., 2016). بیشترین کاهش در رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان توت‌فرنگی، در گیاهانی مشاهده شد که در معرض بیشترین دوز گازهای  $SO_2$ ،  $CO$  و  $NO_x$  قرار گرفته بودند (Muneer et al., 2014). گیاهان گندم و خردل رشد یافته در مناطق آلوده، کاهش چشمگیری در میزان کلروفیل کل و کارتنوئید خود نشان دادند (Chauhan., 2010). بر اساس نتایج به‌دست آمده، میزان محتوای کلروفیل کل گیاهان اسفناج که ۱۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند، نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنادار ۱۲/۵۵ درصدی نشان داد. در همین راستا، Kammerbauer و Dick (۲۰۰۰) نشان دادند که حضور گازهای خروجی آگزوز، سبب افزایش ۱۵ درصدی تولید رنگدانه‌های فعال فتوسنتزی شد. نتیجه مشابه در آزمایشی دیگر که بر روی اثر  $NO_2$  بر *Pisum sativum* L. در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت مشاهده شد (Horsman & Wellburn, 1975). از طرفی سولفور، که جزوی از ترکیبات موجود در آلاینده‌ها است، جزء ساختاری اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، ویتامین و کلروفیل است (Maugh, 1979). با توجه به نتایج به‌دست آمده از

گرفته بودند (Chukwu & Adams, 2016). اسدی نسب و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که کاهش سطح برگ و کاهش هدایت روزنه‌ای و اختلال در اعمال فیزیولوژیکی گیاه به‌ویژه فرآیند فتوسنتز، سبب کاهش تجمع ماده خشک در اندام هوایی شد. عدم دسترسی گیاه به دی‌اکسیدکربن به‌عنوان پیش ماده ساخت آسیمیلات‌های فتوسنتزی از یک سو و افزایش تنفس از سوی دیگر، موجب کاهش رشد و تجمع ماده خشک در اندام هوایی شد.

میزان محتوای نسبی آب گیاهان اسفناج که ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند، نسبت به گیاهان شاهد، ۱۳/۵۴ درصد کاهش معنادار یافت. کاهش محتوای آب نسبی، وضعیت فیزیولوژیکی آشفته در گیاهان را به دلیل وجود آلودگی نشان می‌دهد (Ramakrishnaiah & Somashekar, 2003). کاهش معنادار میزان محتوای نسبی آب برگ گیاهان اسفناجی که بیشترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند، نشان دهنده پاسخ این گیاهان به تنش آلودگی است. مواجهه ۳۰ روزه گیاهان اسفناج در برابر گازهای آلاینده، سبب مسدود شدن روزنه‌ها شده و در نتیجه میزان تعرق برگ‌ها کاهش یافته است. در همین راستا (Swami et al., 2004) نشان دادند که کاهش محتوای آب نسبی گونه‌های گیاهی، به‌دلیل اثر آلاینده‌ها بر سرعت تعرق در برگ‌ها است. میزان محتوای نسبی آب برگ در گیاهان قرار گرفته در کنار جاده‌های شلوغ، کاهش معناداری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (Kiran Kumar et al., 2016) که با نتایج به‌دست آمده حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

میزان نشت یونی برگ گیاهان اسفناج طی مواجهه ۳۰ روزه با آلاینده‌ها، افزایش معنادار ۴۴/۰۳ درصدی نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. احتمالاً مواجهه ۳۰ روزه گیاهان اسفناج با آلاینده‌ها، سبب تولید ROS و ایجاد آسیب اکسیداتیو در گیاهان اسفناج شده، و به غشای سلولی آن‌ها آسیب وارد کرده است. لذا میزان الکترولیت بیشتری از غشا خارج شد. مطالعات دهه‌های گذشته که بر روی اثر



دریافت کرده و نمی‌توانند با توجه به حضور تنش اکسیداتیو، به اندازه کافی بهره‌برداری شوند. همچنین همانطور که در این پژوهش نشان داده شد، روزه‌ها در واکنش به آلاینده‌های خروجی درجه‌های بالای بسته شدن را نشان دادند که همین بسته شدن روزه سبب افت عملکرد فتوسنتز و در نتیجه نسبت  $Fv/Fm$  شده و میزان فلورسانس کلروفیل کاهش یافته است که با تحقیق (Glaz et al., 2004) مطابقت دارد. در تحقیقی که در مناطق آلوده شهری صورت گرفت (Saarinen., 1993)، میزان فلورسانس کلروفیل گیاه *Pinus sylvestris* کمتر از گیاهان منطقه با آلودگی کمتر گزارش شد که همراستا با نتایج به دست آمده از این پژوهش است.

میزان تبادلات گازی برگ از قبیل نرخ فتوسنتز، هدایت روزه‌ای و میزان دی‌اکسیدکربن زیر روزه‌ای، در گیاهان اسفناج که بیشترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند، نسبت به گیاهان شاهد به ترتیب ۱۲/۲۶، ۳۹/۲۱ و ۴/۲۵ درصد کاهش نشان داد. کاهش در ویژگی‌های تبادل گازی در این تحقیق، ممکن است به دلیل آسیب به روزه در اثر مواجهه بلندمدت گیاهان اسفناج با گازهای آلاینده و همچنین بسته شدن روزه در گیاهانی اسفناجی که ۳۰ روز در معرض گازهای آلاینده قرار گرفته‌اند باشد که این بسته شدن روزه، به کاهش هدایت روزه‌ای و نهایتاً میزان فتوسنتز منجر شد. در همین راستا نیز احمدی و بیکر نشان دادند که کاهش هدایت روزه‌ای، سبب کاهش انتشار  $CO_2$  به فضای بین سلولی می‌شود و در نتیجه فتوسنتز را محدود می‌کند (احمدی و بیکر، ۱۳۷۹). سیاحی و همکاران (۱۳۹۴) نیز احتمال دادند که در اثر تنش آلاینده‌ها، روزه‌های برگ بسته می‌شوند و تعرق و مبادله گرمایی و تبادل دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد و در نتیجه سرعت فتوسنتز کاهش پیدا می‌کند. در منطقه آلوده، تبادل گازها در سطح برگ گیاه *Avicennia marina* تحت تأثیر هوای آلوده کاهش یافت و سرعت فتوسنتز نیز با مسدود شدن روزه‌ها کاهش یافت (Naidoo & Chirkoot, 2004). میزان

تحقیقات ذکر شده، به نظر می‌رسد که احتمالاً گازهای موجود در آلاینده‌ها، در گیاهان اسفناجی که کمترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشته‌اند، سبب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است. کارتنوئیدها دسته‌ای از رنگدانه‌های طبیعی محلول در چربی هستند و نقش مهمی در فرآیندهای فتوسنتزی ایفا می‌کنند. کارتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه‌های کمکی و جانبی در گیاهان عمل می‌کنند (Joshi & Swami, 2009). در این پژوهش، میزان کارتنوئید گیاهان اسفناجی که ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند، کاهش معنی‌دار ۱۶/۱۴ درصدی نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. کاهش کارتنوئیدها، پیامدهای جدی در رنگدانه‌های کلروفیلی را در پی دارد (Siefermann-Harms, 1987). کاهش کارتنوئیدها، ممکن است به علت کاهش کلروفیل باشد، زیرا کارتنوئید، انرژی نوری را برای استفاده در فتوسنتز جذب می‌کند و کلروفیل را از آسیب نوری محافظت می‌کند (Kostka-Rick et al., 1993). با توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش، کاهش میزان کلروفیل کل در گیاهان اسفناجی که بیشترین زمان مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند، کاهش میزان کارتنوئید را توجیه می‌کند و با نتایج Marschner و Rimmington (۱۹۸۸) مطابقت دارد.

پارامتر عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو، مشخصه خوبی برای تعیین تفاوت بین شرایط کنترل و تنش است (Zelatev & Yordanov, 2004). تحت شرایط تنش، نسبت  $Fv/Fm$  کاهش می‌یابد که این کاهش، به علت فعالیت کم مراکز واکنش فتوشیمیایی دو و کاهش پروتئین‌های مسئول حمل الکترون آب به کلروفیل  $a$  است (Saarinen & Liski, 1993). در این پژوهش میزان فلورسانس کلروفیل گیاهان اسفناجی که به مدت ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند، ۲/۵۶ درصد کاهش معنادار نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. کاهش  $Fv/Fm$  تحت تنش گازهای آلوده‌کننده، ممکن است به دلیل غیرفعال شدن مراکز واکنش فتوسیستم‌ها باشد که مقدار نخستین از انرژی نوری را

(Miller et al., 2010). فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان *Jatropha integerrima* و *Cassia surattensis* و گیاه *Pyracantha crenulata* واریته *kansuensis* واقع در مناطق آلوده، نسبت به مناطق پاک، افزایش معنادار پیدا کرد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (ظفری و همکاران، ۱۳۹۵). آنزیم آسکوربات پراکسیداز، سبب از بین بردن پراکسید هیدروژن در تنش اکسیداتیو، در گیاهان، جلبک‌ها و چندین سیانو باکتری می‌شود (Sairam & Saxena, 2000). این جزئی از چرخه آسکوربات-گلوتاتیون است که مانند جاروبگر شکل‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند و به نظر می‌رسد برای حفاظت از گیاهان در برابر شکل‌های فعال اکسیژن (پراکسید هیدروژن) در هنگام در معرض قرار گرفتن گیاهان در برابر آلاینده‌ها تولید می‌شود (Miyake et al., 1993). افزایش آسکوربات پراکسیداز در دو گیاه اسطوخودوس و برگ نو واقع در مناطق آلوده نتایج این پژوهش را تأیید می‌کند (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۸). پراکسیدازها با کاهش سطوح هیدروپراکسیداز به خوبی از ایجاد آسیب برگ‌ناشی از رادیکال‌های آزاد در گیاهان جلوگیری می‌کنند. معروف است که این آنزیم فعالیت خود را هنگام قرار گرفتن در معرض تنش اکسیداتیو افزایش می‌دهد (Mehlhorn et al., 1987). در بررسی که بر روی گیاهان دولپه‌ای که در فواصل مختلف کنار جاده پرتراپیگ و با آلودگی بالا کشت شده بودند، نشان داده شد که میزان فعالیت پراکسیداز گیاهانی که نزدیکترین فاصله را به منبع آلودگی داشتند، بیشتر از گیاهان فواصل دورتر بود (Sarkar et al., 1986). همچنین افزایش آنزیم پراکسیداز در گیاهان *Ricinus communis* L. که در معرض آلاینده‌های وسائط نقلیه شهری قرار گرفته بودند نسبت به گیاهان شاهد نشان داده شد (Kammerbauer & Dick, 2000).

افزایش تعداد سلول‌های روزنه سطح برگ‌های جمعیت آلوده، می‌تواند یک توسعه فیزیولوژیکی توسط گونه‌های گیاهی باشد تا بتوانند در شرایط ناخوشایند زیست‌محیطی

تبادلات گازی گیاهان اسفناج که به مدت ۱۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار داشتند، نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنادار نشان داد. در همین راستا، محققان نشان دادند که حضور گازهای خروجی آگزوز، سبب افزایش ۱۵ درصدی در تولید رنگدانه‌های فعال فتوسنتزی شد (Kammerbauer & Dick., 2000). وی بیان کرد که افزایش کلروفیل ممکن است به دلیل جذب  $\text{NO}_2$  به پیش‌سازهای نیتروژنی باشد. از طرفی سولفور که جزوی از ترکیبات موجود در آلاینده‌ها است، یک جزء ساختاری از اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، ویتامین و کلروفیل است (Maugh, 1979). با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقات ذکر شده، به نظر می‌رسد که احتمالاً ترکیبات موجود در آلاینده‌ها، در ۱۰ روز اول، سبب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان اسفناج شده و در نتیجه میزان فتوسنتز نیز افزایش پیدا کرده است.

در تمام زمان‌هایی که گیاهان اسفناج در معرض آلاینده‌ها قرار گرفتند، تولید پرولین نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنادار پیدا کرد. درصد افزایش پرولین در گیاهان در معرض آلاینده نسبت به گیاهان شاهد در روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز به ترتیب ۱/۱۲، ۱/۶۱ و ۲/۰۱ برابر بود که نشان دهنده یک نوع مکانیسم مقاومتی در این گیاه برای مقابله با تنش است که با نتایج Patidar و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد. افزایش در محتوای پرولین در گیاه *Callistemon citrinus* و دو گیاه کنوکارپوس و جمبو که در معرض مناطق آلوده قرار داشتند نشان داده شده است (انتشاری و همکاران (۱۳۹۳)؛ Seyyednejad et al., 2009).

در گیاهان اسفناجی که ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها بودند، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به مقدار ۱/۳۶ برابر، آسکوربات پراکسیداز به میزان ۸۵/۰۱ درصد و گایاکول پراکسیداز به میزان ۲/۷۵ برابر نسبت به گیاهان شاهد نشان داده شد. آلودگی هوا، تولید ROS در سلول‌های گیاهی را افزایش می‌دهد و سبب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود

این که گاز بتواند از اپیدرم عبور کند (Heath, 1980). در پژوهشی، بسته شدن ساده روزنه درباره گیاه *Boerhaavia* و *Amaranthus* تحت تنش آلودگی و همچنین گرفتگی روزنه در گیاه *Nerium* و برگ‌های گیاه *Tabernaemontana* مشهود بود (Mandal, 2006). نشان داده شد که در منطقه آلوده، تعداد روزنه و روزنه بسته، بیشتر از شاهد بود؛ در حالی که تعداد روزنه بسته در منطقه شاهد یا کنترل، بسیار کمتر گزارش شد (Amulya et al., 2015).

آوند چوبی و آبکش بزرگ و توسعه یافته در گیاه نمونه منطقه آلوده، ممکن است به‌عنوان عامل حفاظتی در این گیاهان به خصوص در حالت نامطلوب ظاهر شوند. کاهش دسته جات آوندی، منجر به کاهش نقل و انتقالات آلاینده‌ها به گیاه می‌شود (Lorestani et al., 2014). در مورد گیاه اسفناج، تفاوت قابل ذکری بین گیاهانی که بیشترین مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند و گیاهانی که کم‌ترین مواجهه با آلاینده‌ها داشتند مشاهده نشد. در همین راستا در مطالعه‌ای که بر روی اثر آلاینده‌های خودرو بر روی فیزیولوژی و آناتومی گیاهان *Guaiacum officinale*، *Ficus bengalensis* L. و *Eucalyptus* sp. انجام گرفت، هیچ آسیب و یا تغییرات آناتومیک نشان داده نشد (Jahan & Zafar Iqbal, 1992).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج به خوبی نشان دادند که مواجهه گیاهان اسفناج با آلاینده‌ها سبب بروز برخی از واکنش‌های فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و آناتومیک در گیاهان اسفناج شد که می‌توان این واکنش‌ها را به‌عنوان سازگاری این گیاه در برابر تنش آلودگی به‌منظور تطابق یا مقابله با شرایط تنش و در نتیجه زنده ماندن گیاه در شرایط تنش آلودگی در نظر گرفت. افزایش معنی‌دار در صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، نشت یونی و تعداد روزنه در واحد سطح، در گیاهان اسفناج ۳۰ روز نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد که بیشترین افزایش در این بازه زمانی مربوط

که توسط میزان بالای آلودگی در منطقه ایجاد شده است سالم بماند (Sukumaran, 2014). به‌نظر می‌رسد گیاهان اسفناجی که به مدت ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها قرار گرفتند، با افزایش تعداد روزنه، نوعی سیستم دفاعی ایجاد کرده‌اند تا هم مانع کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی و هم مانع آسیب به روزنه‌ها شوند. مطالعات میکروسکوپ نوری در گیاهان *Quisqualis* و *Nyctanthes*، *Terminalia* نشان داد که در مقایسه با برگ‌های گیاهان کنترل، تعداد روزنه به‌طور چشمگیری در گیاهان مناطق آلوده افزایش یافته بود (Rai, 2016). مطالعات میکروسکوپی آناتومی برگ و آناتومی ساقه و مشخصه‌های اپیدرمی برگ، افزایش تعداد روزنه برگ‌های گیاهانی که در کنار جاده رشد کردند را نشان داد (Lakshmi, 2010). طول روزنه در گیاهان اسفناجی که به مدت ۳۰ روز در معرض آلاینده‌ها بودند، نسبت به گیاهان شاهد ۱۶/۶۸ درصد کاهش معنادار یافت. تحقیقات مشابه بر روی گیاهان واقع در مناطق آلوده شهری، کاهش طول منفذ روزنه را در گیاهان این مناطق نسبت به گیاهان شاهد نشان می‌دهد (Lata & Divya, 2010; Amulya et al., 2015). کاهش طول منافذ روزنه در سطح فوقانی برگ بادمجان (*Solanum melongena*) نشان داده شد و بیان شد که این کاهش، احتمالاً سازگاری اصلی و مهم نسبت به آلودگی ناشی از دود است. با در نظر گرفتن آثار شناخته شده اندازه منافذ روزنه بر جریان گاز به برگ‌ها، پیشنهاد شد که کاهش مشاهده شده در طول حفره، بتواند حجم آلاینده‌های گازی که وارد برگ می‌شود را کاهش دهد و بنابراین ممکن است به‌عنوان معیار حفاظتی در برابر محیط زیست آلوده تلقی شود و در نتیجه آثار مخرب آلاینده‌ها را کاهش دهد (Gupta et al., 1986).

منفذ روزنه گیاهان اسفناجی که بیشترین مواجهه با آلاینده‌ها را داشتند، به‌دلیل بسته شدن روزنه در اثر آلاینده‌ها کوچکتر شدند. گازهای آلاینده از راه روزنه‌ها به درون گیاه وارد می‌شوند و به‌طور واضح، بسته شدن روزنه‌ها باعث کم شدن آسیب یا آسیب نرسیدن به گیاه می‌شود، مگر

شد. از بین ۳ زمان مواجهه آلاینده در این تحقیق، بیشترین تغییر صفت‌ها در رابطه با گیاهان ۳۰ روز مشاهده شد. قرار گرفتن ۱۰ روزه گیاهان اسفناج در برابر آلاینده‌ها، سبب افزایش معنادار محتوای کلروفیل کل (۱۲/۵۵ درصد) و افزایش نرخ فتوستت (۲۹/۰۷ درصد) نسبت به گیاهان شاهد شد که دلیل آن را باید در ترکیبات موجود در آلاینده‌ها و نقش  $CO_2$  در فرایند فتوستت و نیز حضور نیتروژن و سولفور موجود در گازهای  $NO_2$  و  $SO_2$  جست‌وجو کرد.

به فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۲/۷۵ برابر) و بعد از آن میزان پرولین (۲/۰۱ برابر) بود. در بین صفات آناتومیکی، بیشترین درصد تغییر در زمان ۳۰ روز مربوط به تعداد روزنه (۶۲/۲۰ درصد) نشان داده شد. کاهش معنادار در صفات کلروفیل کل، کارتنوئید، صفات مربوط به تبادل گازی برگ (به غیر از دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای)، میزان فلورسانس کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، وزن تر و وزن خشک و طول روزنه، در گیاهان اسفناج ۳۰ روز نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. بیشترین کاهش مربوط به میزان هدایت روزنه‌ای (۳۹/۲۱ درصد) و کمترین کاهش مربوط به میزان کروویل فلورسانس (۲/۵۶ درصد) مشاهده

## منابع

- احمدی، ع.، و بیکر، د.آ. ۱۳۷۹. عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای محدود کننده فتوستت در گندم در شرایط تنش خشکی. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۱ (۴): ۸۱۳-۸۲۵.
- اسدی نسب، ن.، حسینی، پ.، روشنفکر، ح.، و مسکر باشی، م. ۱۳۹۳. اثر تنش شوری بر رشد، فتوستت، تبادلات گازی و فلورسانس کلروفیل در ارقام چغندر قند *Beta vulgaris* L. در مرحله گیاهچه‌ای تحت شرایط کنترل شده. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۲ (۴): ۶۲۱-۶۳۱.
- انتشاری، ش.، ارس خلجی، م.، سیدنژاد س. م.، و واعظی، ج. ۱۳۹۳. بررسی مقایسه‌ای تغییرات سطح برگ و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی برگ دو گیاه درختی کنوکارپوس (*Conocarpus erectus* L.) و جمبو (*Syzygium cumini* L.) در اطراف منطقه آلوده صنایع فولاد اهواز. فیزیولوژی محیطی گیاهی (پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران)، ۹ (۲): ۲۲-۳۳.
- سیاحی، ن.، مسکر باشی، م.، حسینی، پ. و شمیلی، م. ۱۳۹۴. اثر ریزگردها بر فلورسانس کلروفیل و خصوصیات فتوستتری نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) در اهواز، نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲۲ (۳): ۲۷۷-۲۹۳.
- ظفری، ط.، بی خوف تربتی، م.، مراقبی، ف.، و رضوی‌زاده، ر. ۱۳۹۵. بررسی اثرات آلودگی هوا بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه *Pyracantha crenulata* واریته *kansuensis* در دو منطقه پاک و آلوده تهران. نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱۱ (۴۲): ۷۵-۸۴.
- قربانلی، م.، منفرد، ا.، بخشی خانیکی، غ. ر.، و یزدانی، ک. ۱۳۸۸. تأثیر آلودگی هوا بر روی پراکسیداسیون غشا و فعالیت آنزیمی آنزیم‌های آنتی اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) در اسطوخودوس و برگ نو در تهران. گیاه و زیست‌بوم، ۱۹ (۵): ۵۹-۷۰.
- قربانلی، م.، بخشی خانیکی، غ. ر.، 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 *Robinia pseudoacacia* L. و افاقیا *Nerium oleander* L. زراعت و باغبانی، ۷۷: ۲۸-۳۴.

Aebi, H. 1984. (13) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.

Ahmad, M.S.A., Hussain, M., Ijaz S. and Alvi, A.K. 2008. Photosynthetic performance of two mung bean (*Vigna radiata* L.) cultivars under lead and copper stress. *International journal of agriculture & biology*, 10(2): 167-172.

- Amulya, L., Hemanth, N., Kumarand K. and Jagannath, S. 2015. Air pollution impact on micromorphological and biochemical response of *Tabernaemontana divaricata* L. (Gentianales: Apocynaceae) and *Hamelia patens*. (Gentianales: Rubiaceae). Brazilian Journal of Biological Sciences, 2(4): 287-294.
- Aquil, S., Ahmad, S. H., Reshi, Z. A. and Iqbal, M. 2003. Physiological and biochemical response of *Albizia lebbek* benth to coal smoke pollution. Pollution Research. 22(4): 489-493.
- Areington, C.A., Varghese, B. and Ramdhani, S. 2015. An Assessment of morphological, physiological and biochemical biomarkers of industrial air pollution in the leaves of *Brachylaena discolor*. water, air and soil Pollution, 226(9): 1-14.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.
- Capelo, A., Santos, C., Loureiro S. and Pedrosa, M. A. 2012. Phytotoxicity of lead on *Lactuca sativa*: Effects on growth, mineral nutrition, photosynthetic activity and oxidant metabolism. Fresenius Environmental Bulletin, 21: 450-459.
- Chance, B. and Maehly, C. 1955. Assay of catalase and peroxidases. Methods in Enzymology, 11: 764-775.
- Chauhan, A. 2010. Photosynthetic pigment changes in some selected trees induced by automobile exhaust in Dehradun, Uttarakhand. New York Science Journal, 3(2): 45-51.
- Chukwu, M.N. and Adams, E.A. 2016. Effect of generator (exhaust) fumes on the growth and development of *Lycopersicum esculentus* (tomato). J. applied science and environmental management, 20(2): 335-340.
- Glaz, B., Dolen, R.M. and Samira H.D. 2004. Sugarcane photosynthesis, transpiration and stomatal conductance due to flooding and water table. Crop Science, 44: 1633-1641.
- Gupta, M.C. and Ghouse, A.K.M. 1986. The effects of coal-smoke pollutants on the leaf epidermal architecture in *Solanum melongena* L. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological, 41(4): 315-321.
- Heath, R.L. 1980. Initial events in injury to plants by air pollutants. Annual review of plant physiology, 31: 395-431.
- Horsman, D.C. and Wellburn, A.R. 1975. Synergistic effects of SO<sub>2</sub> and NO<sub>2</sub>-polluted air upon enzyme activity in pea seedlings. Environmental Pollution, 8: 123-133.
- Jahan. S. and Zafar Iqbal, M. 1992. Morphological and anatomical studies of leaves of different plants affected by motor vehicles exhaust. J. Islamic World Academy of Sciences, 5(1): 21-23.
- Joshi, P.C. and Swami, A. 2009. Air pollution induced changes in the photosynthetic pigments of selected plant species. J. Environmental Boiling, 30(2): 295-298.
- Kammerbauer, J. and Dick, T. 2000. Monitoring of urban traffic emissions using some physiological indicators in *Ricinus communis* L. Plants. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 39(2): 161-166.
- Kiran Kumar, S.J., Raj, K.S. and Deepalakshmi, A.P. 2016. Plants as Bio-indicators and Bio-monitors of urban air pollution. International Journal of Scientific & Engineering Research, 7(2): 449-455.
- Kostka-Rick, R. and Mannin, W.J. 1993. Radish (*Raphanus sativus* L.): A model for studying plant responses to air pollutants and other environmental stresses. Environmental Pollution, 82(2): 107-138.
- Lakshmi, B.O. 2010. Environmental pollution-biological risks-oxidative stress and natural antioxidant principles. Paper presented in the sixteen NCA National symposium on applications of biotechnology in the environment management and medicine. Davangere, India. 19-21.
- Lata, S. and Divya, S. 2010. Comparative ecomorphological studies on *Datura alba* linn. plants growing along roadsides and railway tracks. Environment & We an International Journal of Science & Technology, 5: 155-162.
- Lichtenhaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids. Pigments of photosynthetic biomembranes. PP. 350-382. In: R. Douce and L. Packer (Eds.), Methods in Enzymology. Academic Press Inc, New York.
- Lorestani, B., Kolahchi, N., Ghasemi, M. and Cheraghi, M. 2014. Changes germination, growth and anatomy *Vicia ervilia* in response to light crude oil stress. Journal of Chemical Health Risks, 4(1): 45-52.
- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1995. Changes in plant response to Nacl during development of rice varieties differing in salinity resistance. J. Experimental Botany, 46(12): 1843-1852.
- Majernik, O. and Mansfield, T. A. 1970. Direct effects of SO<sub>2</sub> pollution on the degree of opening of stomata. Nat, 227(5256): 377 - 378.

- Mandal, M. and Mukherji, S. 2000. Changes in chlorophyll contents, chlorophyllase activity, Hill reaction photosynthetic CO<sub>2</sub> uptake, sugar and starch content in five dicotyledonous plants exposed to automobile exhaust pollution. *J. Experimental Botany*, 21(1): 37-41.
- Mandal, M. 2006. Physiological changes in certain test plants under automobile exhaust pollution. *J. Environmental Biology*, 27(1): 43-47.
- Marschner, H. and Rimmington, G. 1988. Mineral nutrition of higher plants. *Plant, Cell & Environment*, 11: 147-148.
- Maugh, T. H. 1979. SO<sub>2</sub> pollution may be good for plants. *Science*, 205(4404): 383-383.
- Mehlhorn, H., Cottam, D.A., Lucas, P.W. and Wellburn, A.R. 1987. Induction of ascorbate peroxidase and glutathione reductase activities by interactions of mixtures of air pollutants. *Free Radical Research. Communications*, 3(1-5): 193-197.
- Miller, G.A.D., Suzuki, N. and Mittler, R.O.N. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment*, 33(4): 453-467.
- Miyake, C., Cao, W.H. and Asada, K. 1993. Purification and molecular properties of the thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 34(6): 881-889.
- Muneer, S., Kim, T.H., Choi, B.C., Lee, B.S. and Lee, J.H. 2014. 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.
- Naidoo, G. and Chirkoot, D. 2004. The effects of coal dust on photosynthetic performance of the mangrove, *Avicennia marina* in Richards Bay, South Africa. *Environmental Pollution*, 127(3): 359-366.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5): 867-880.
- Patidar, S., Bafna, A., Batham, A.R. and Panwar, K. 2016. Impact of urban air pollution on photosynthetic pigment and proline content of plants growing along the AB road indore city, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(3): 107-113.
- Rai, P.K. 2016. Biodiversity of roadside plants and their response to air pollution in an Indo-Burma hotspot region: implications for urban ecosystem restoration. *J. Asia-Pacific Biodiversity*, 9(1): 47-55.
- Ramakrishnaiah, H. and Somashekar, R.K. 2003. Higher plants as biomonitors of automobile pollution. *ecology, environment and conservation*, 9(3): 337 – 343.
- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Halody, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1): 105-111.
- Saarinen, T. and Liski, J. 1993. The effect of industrial air pollution on chlorophyll fluorescence and pigment contents of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles. *European Journal of Plant Pathology*, 23(6-7): 353-361.
- Saarinen, T. 1993. Chlorophyll fluorescence, and nitrogen and pigment content of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles in polluted urban habitats. *Annales Botanici Fennici*, 30(1): 1-7.
- Sairam, R.K. and Saxena, D.C. 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *J. Agronomy and Crop Science*, 184(1): 55- 61.
- Sarkar, R.K., Banerjee, A. and Mukherji, S. 1986. Acceleration of peroxidase and catalase activities in leaves of wild dicotyledonous plants, as an indication of automobile exhaust pollution. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 42(4): 289-295.
- Seyyednejad, S.M., Niknejad, M. and Yusefi, M. 2009. Study of air pollution effects on some physiology and morphology factors of *Albizia lebeck* in high temperature condition in Khuzestan. *Plant Science*, 4(4): 122-126.
- Siefermann-Harms, D. 1987. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiologia Plantarum*, 69(3): 561-568.
- Sukumaran, D. 2014. Effect of air pollution on the anatomy some tropical plants. *Applied ecology and environmental sciences*, 2(1): 32-36.
- Swami, A., Bhatt, D. and Joshi, P.C. 2004. Effect of automobile pollution on Sal (*Shorea robusta*) and Rohini (*Mallotus philippinensis*) at Asarori, Dehradun. *Himalayan Journal of Environmental Zoology*, 18(1): 57-61.

Tiwari, S., Agrawal, M. and Marshall, F. M. 2006. Evaluation of ambient air pollution impact on carrot plants at a suburban site using open top chambers. *Environmental Monitoring and Assessment*, 119(1-3): 15–30.

Tomassini, F.D., Lavoie, P., Puckett, K.J., Nieboer, E. and Richardson, D.H.S. 1977. The effect of time of exposure to sulphur dioxide on potassium loss from and photosynthesis in the lichen, *Cladina rangiferina* (L.). *Harm. New Phytologist*, 79(1): 147-155.

Uaboi-Egbenni, P. O., Okolie, P. N., Adejuyitan, O. E., Sobande, A. O. and kinyemi, O. A. 2009. Effect of industrial effluents on the growth and anatomical structures of *Abelmoschus esculentus* (Okra). *African Journal of Biotechnology*, 8(14): 3251-3260.

Zelatev, Z.S. and Yordanov, I.T. 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in Bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30 (3-4): 3-18.

Archive of SID