مقاله تحقیقی

بررسی اثر غلظت‌های مختلف آلاینده دی‌اکسید نیتروژن بر شاخص زیستی گلسنگ (*Lecanora muralis*)

محمدرضا خانی [۱]، الهام قنادی [*۲]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده محیط زیست و انرژی، تهران، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، تهران، ایران

[*]**مسؤول مکاتبات:** الهام قنادی، گروه مهندسی محیط زیست (آلودگی هوا)، واحد پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: ghanadi_elham@yahoo.com

مکان انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت:۸۹/۸/۲ تاریخ پذیرش:۸۹/۱۱/۱۷

چکیده

زیست‌نشانگرها به عنوان شناساگرهای آلاینده‌های هوا در محیط‌های شهری و صنعتی می‌توانند هدایت‌کننده‌های مناسبی برای کنترل آلودگی هوا باشند. گلسنگ به دلیل قابلیت زیست در شرایط آب و هوایی مختلف و حساسیت زیاد به آلاینده‌های هوا، خصوصاً دی‌اکسید نیتروژن، دی‌اکسید گوگرد، ازن و فلوئور، به عنوان یکی از زیست‌نشانگرهای کنترل آلودگی هوا مطرح است. دی‌اکسید نیتروژن به‌عنوان یکی از آلاینده‌های مهم، بر روی گیاهان، جانوران و اشیاء، اثرات غیر قابل جبرانی را بر جای می‌گذارد و لذا پایش و کنترل آن از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین، بررسی کارآیی و تاثیرپذیری پایش زیستی دی‌اکسید نیتروژن با استفاده از گلسنگ *Lecanora muralis*، مد نظر قرار گرفت. در این تحقیق، گلسنگ مورد نظر، درون کیسه‌های مخصوص، در تماس با گاز دی‌اکسید نیتروژن در غلظت‌های۶۰، ۱۰۰ و ppb۲۰۰ به مدت سه ساعت قرار داده شد. سپس میزان تخریب کلروفیل a، b و a+b و نسبت OD۴۳۵/OD۴۱۵ از طریق غوطه‌ور ساختن ۲۰ میلی‌گرم از وزن خالص گلسنگ در ۱۰ میلی‌لیتر محلول DMSO اندازه‌گیری شد. در تمامی موارد، تخریب کلروفیل a ، b و a+b رابطه غیرمستقیم بین میزان تخریب و غلظت آلاینده وجود داشت. به این معنی که با افزایش غلظت گاز NO_2، میزان تخریب کلروفیل a، b و a+b کاهش یافت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که گلسنگ گونه *Lecanora muralis* نسبت به آلاینده NO_2 به عنوان یک گونه مقاوم مطرح است.

واژه‌های کلیدی: پایش آلودگی هوا، دی‌اکسید نیتروژن، زیست‌نشانگر، گلسنگ

مقدمه

زیست‌نشانگرها از جمله ابزارهای مهمی هستند که می‌توان به کمک آن‌ها آلودگی هوا را پایش نمود. گلسنگ‌ها از زیست‌نشانگرهایی هستند که به دلیل جذب سریع و بالای آلاینده‌های موجود در اتمسفر، اهمیّت ویژه‌ای در پایش آلودگی هوا دارند. امکان پایش دی‌اکسید نیتروژن، دی‌اکسیدگوگرد، ازن، دود، ذرات، فلوراید، هیدروکربن‌ها، فلزات سنگین، رادیونوکلوئیدها و یا سموم شیمیایی مورد استفاده در کشاورزی با استفاده از گلسنگ‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (۱).

پایش آلودگی هوا با استفـاده از زیست‌نشانگرها، به عنوان راه‌کاری موثـر و اقتصادی از طریق سنجش مستقیم هوای آزاد پا به عرصـه گذاشته که خصوصاً برای پایش مناطق وسیع به‌کار برده می‌شود (۲). پالاینده‌های زیستی مزایای بیشتری نسبت به سیستم‌های پایشی مرسوم (آزمایشگاهی، شیمیایی و دستگاهی) دارند. آن‌ها مکمل‌هایی هستند که اثرات بیولوژیکی حاصل از غلظت آلاینده‌ها را نشـان داده و عموما سیستم‌هایی ارزان قیمت با هزینه نگهداری پایین، قابل کاربـرد در مناطق شهری و روستـایی و در حیطه جغرافیـایی وسیع هستند. شاید بتوان گفـت راحت‌ترین سیستم‌های هشداردهنده موجود به‌شمار می‌آیند (۳). به عبارت دیگر، حساسیت گلسنگ‌ها به آلاینده‌ها می‌تواند مفید باشد و با استفاده از این حساسیت می‌توان از آن‌ها به‌عنوان پالاینده‌های زیستی در مطالعات مربوط به کنترل آلودگی هوا استفاده کرد (۴).

دی‌اکسید نیتروژن (NO_2)، یکی از آلاینده‌های اولیه بوده که برای انسان و محیط مضر است (۵). NO_2 دارای اثرات وسیع بهداشتی و زیست‌محیطی خصوصا برای افراد مبتلا به آسم، کودکان، افراد مسن و مبتلا به بیماری‌های قلبی و ریوی است. تماس طولانی مدت با سطوح بالای گاز NO_2 و ذرات همراه آن، منجر به بروز بیماری‌های تنفسی و وخامت بیماری‌های قلبی می‌شود (۶).

اثرات کلـی آلودگـی هوا بر روی گلسنگ‌ها عبارتنـد از کاهش انـدازه گیـاه و میـزان بـاروری، سفیـدشدن و پیـچ‌خوردگی، محـدودشدن گونـه‌ها در بین سایـر گیـاهان و مرگ گونـه‌های حساس. اکثـر گونـه‌های مقـاوم در مناطقـی با غلظت‌هـای بالاتـر این آلاینـده‌ها دوام می‌آورند، با این‌حـال ممکن است تغییـرات ظاهری یـا داخـلی در مرفـولـوژی آن‌هـا دیـده شود (۷،۸).

برای نخستین بار، ویلیام نایلندر (۱۸۶۶) گلسنگ‌شناس فنلاندی مشاهده نمود برخی گونه‌های در حال رشد گلسنگ موجود در پارک لوکزامبورگ فرانسه، در سایر قسمت‌های شهر وجود ندارند و آلوده نبودن هوا در پارک را علت اصلی رشد گلسنگ‌ها در این مناطق دانست (۹). از دهه ۱۹۶۰ به بعد، مطالعاتی در مقیاس بزرگ‌تر پیرامون ارزیابی کیفیت هوا با استفاده از گلسنگ در پارک‌های ملی، جنگل‌ها و مناطق حفاظت‌شده آمریکا در اورگان، واشنگتن و همچنین در پرتغال، هلند، سوئد و ایتالیا انجام شده است (۴،۱۰).

به طور کلی، هدف مطالعات تدخینی، برقراری ارتباط کمّی بین غلظت آلاینده‌های مختلف هوا و واکنش‌های تشریحی و فیزیولوژیکی گلسنگ‌ها است تا بر مبنای آن‌ها امکان دستیابی به روش‌های قابل اطمینان و موثر در پایش زیستی آلاینده‌ها فراهم گردد. از این‌رو، در تحقیق حاضر از گلسنگ *Lecanora muralis* جهت بررسی و پایش NO_2 در هوای محیط استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، گلسنگ گونه *Lecanora muralis*، جهت مواجهه با آلاینده NO_2 و بررسی اثرات وارده بر آن انتخاب گردید. جهت انجام تحقیق، از نمونه‌های شاهد و نمونه‌های در معرض تماس با دی‌اکسیدنیتروژن در غلظت‌های ۶۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppb بر اساس حداقل و حداکثر غلظت و میانگین سالیانه آن در هوای شهر تهران استفاده شد (۹). جهت بالا بردن دقت آزمایش‌ها، در هر غلظت پنج نمونه جهت تزریق آماده گردید و میزان کلروفیل بر اساس میانگین جذب دی‌اکسیدنیتروژن در هر طول موج محاسبه شد.

به این منظور، ابتدا نمونه شاهد به آزمایشگاه منتقل و جهت احیای فعالیت فتوسنتزی، با آب دو بار تقطیر یافته، شسته شد و ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا خشک شود. سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر Perkin-Elmer Junior Model 35 میزان کلروفیل آن قرائت شد. به این منظور، ۲۰ میلی‌گرم از وزن خالص گلسنگ مستقیماً در ۱۰ میلی‌لیتر محلول دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) (مزایای استفاده از دی‌متیل سولفوکساید به عنوان حلال جداکننده پیگمان‌های فتوسنتزکننده در گلسنگ شامل استخراج ساده، سریع، کامل و امکان نگهداری نمونه استخراج شده در سرما، بدون تجزیه شدن آن می‌باشد) عصاره‌گیری شد. میزان

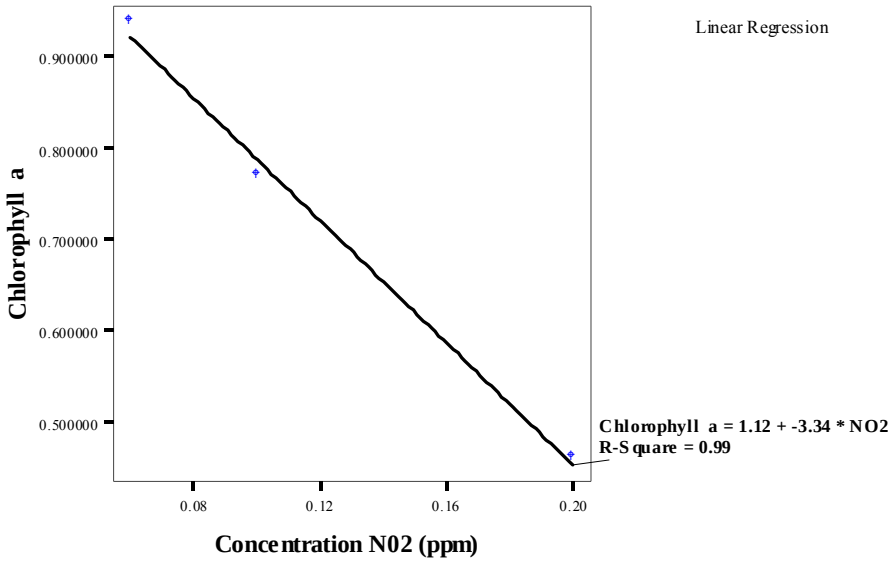
جذب عصاره در طول موج‌های ۶۵۵، ۶۴۸، ۴۳۵ و ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل a+b و نسبت (OD۴۳۵/OD۴۱۵) با استفاده از روابط ضریب جذب مخصوص برای تعیین کلروفیل a و b خالص، محاسبه گردید (۱۱). نسبت دانسیته نوری نمونه‌های کلروفیل که در طول موج های ۴۳۵ و ۴۱۵ نانومتر قرائت می‌شوند (OD۴۳۵/OD۴۱۵) یکی‌از رایج‌ترین پارامترهای مورد استفاده برای سنجش تخریب کلروفیل a است. روش مورد استفاده در این آزمایش، مطابق روش JD, Barnes و همکارانش در سال ۱۹۹۲ بوده است (۱۲).

در مرحله بعد، نمونه‌های مورد نظر در کیسه‌های مخصوص قرار داده شد. گاز دی‌اکسید نیتروژن در غلظت‌های ۶۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppb به درون کیسه‌ها با استفاده از دستگاه Enviro MGC تزریق گردید. هر یک از نمونه‌های گلسنگ، بعد از سه ساعت تماس، به آزمایشگاه منتقل و مقدار کلروفیل آن‌ها مانند نمونه شاهد اندازه‌گیری شد.

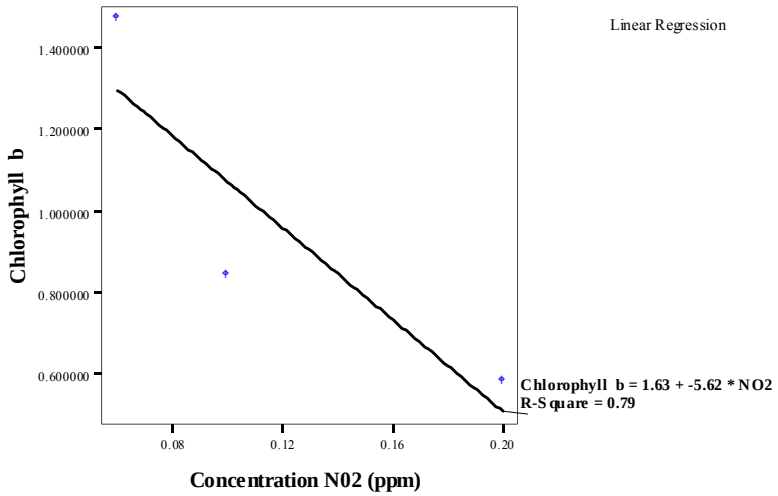
در نهایت با آنالیز آماری نتایج حاصل توسط نرم-افزار SPSS و استفاده از آزمون T-test، ارتباط بین داده‌های کمی حاصل از نظر معنی‌دار بودن مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج

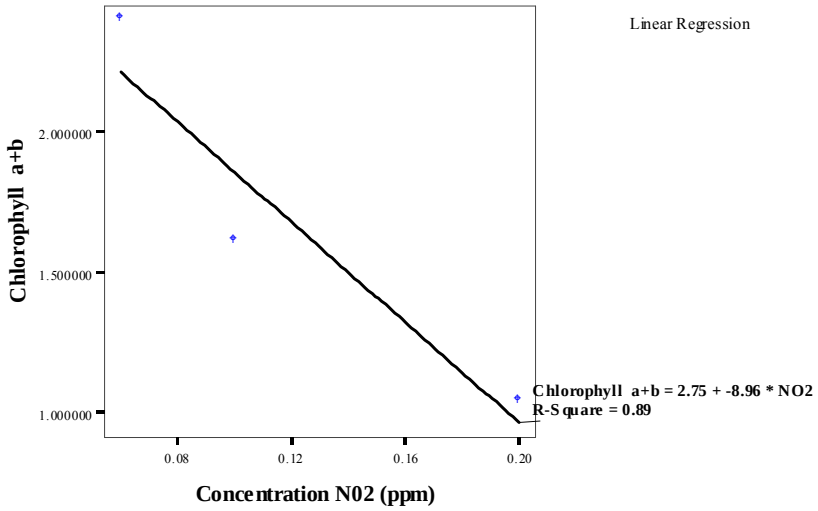
تغییرات و میزان تخریب کلروفیل گلسنگ به عنوان یک زیست‌نشانگر در مواجهه با غلظت‌های مختلف آلاینده دی‌اکسیدنیتروژن مورد ارزیابی قرار گرفته است. نتایج اندازه‌گیری میزان تخریب کلروفیل a، b و a+b در نمونه‌های شاهد و اصلی طی پنج بار تکرار در غلظت‌های ۶۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppb در نمودارهای مربوطه نشان داده شده است. نمودار ۱، میزان تخریب کلروفیل a در مواجهه با مقادیر مختلف NO_2 و نمودارهای ۲ و ۳ به ترتیب میزان تخریب کلروفیل b و میزان تخریب کلروفیل a+b را در مواجهه با مقادیر مختلف NO_2 نشان می‌دهند. نمودار ۴، مقایسه میزان تخریب کلروفیل a، b و a+b را با نسبت OD۴۳۵/OD۴۱۵ بیان می‌کند.



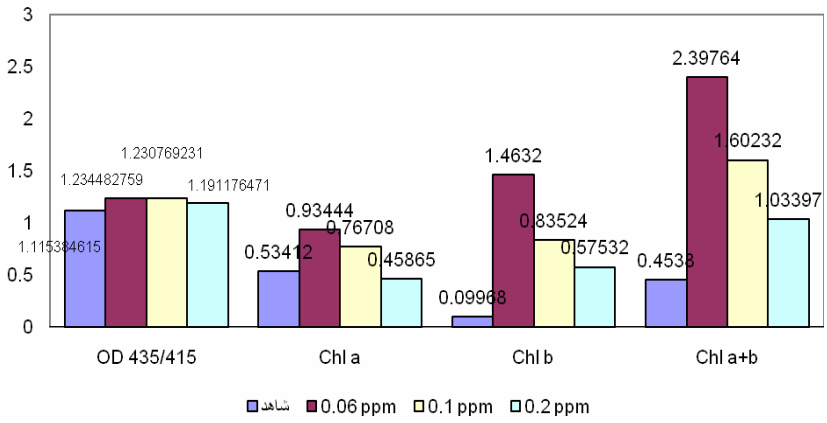
نمودار ۱ - ارتباط خطی بین غلظت‌های مختلف دی‌اکسید نیتروژن و میزان تخریب کلروفیل a.



نمودار ۲ - ارتباط خطی بین غلظت‌های مختلف دی‌اکسید نیتروژن و میزان تخریب کلروفیل b.



نمودار ۳ - ارتباط خطی بین غلظت‌های مختلف دی‌اکسید نیتروژن و میزان تخریب کلروفیل a+b.



نمودار ۴ - مقایسه میزان تخریب کلروفیل a، b، a + b و نسبت OD۴۳۵/OD۴۱۵ در نمونه شاهد و نمونه‌های در معرض تماس با غلظت‌های مختلف گاز دی‌اکسید نیتروژن در گلسنگ.

بر اساس یافته‌های حاصل از نمودار ۱، نتایج بررسی تغییرات NO_2 با میزان تخریب کلروفیل a نشان می‌دهد که این دو پارامتر در سطح معنی‌داری ($P \alpha$ ۰/۰۸) و دارای همبستگی منفی (R^2=۰/۰۹۹) است. در نمودار ۲، تغییرات غلظت NO_2 با میزان تخریب کلروفیل b نشان داده شده است. تغییرات غلظت NO_2 با میزان تخریب کلروفیل b نشان می‌دهد که این دو پارامتر در سطح معنی‌داری ($P \alpha$ ۰/۱۹) و دارای همبستگی منفی (R^2=۰/۸۹) است.

در نمودار ۳، تغییرات غلظت NO_2 با میزان تخریب کلروفیل (a + b) نشان داده شده است که دارای سطح معنی‌داری ($P \alpha$ ۰/۰۷) و همبستگی منفی (R^2=۰/۳۶) است.

در نمودار ۴، میزان تخریب کلروفیل در نمونه‌های تماس داده شده با آلاینده NO_2، با نمونه شاهد مقایسه شده و نشان می‌دهد که میزان تخریب کلروفیل (a ، b و a+b) و OD ۴۳۵/۴۱۵ با افزایش غلظت، در نمونه‌های در معرض تماس در مقایسه با نمونه شاهـد کاهش یافته است.

بحث و نتیجه‌گیری

گلسنگ گونه *Lecanora muralis* در تماس با آلاینده NO_2 به عنوان یک گونه مقاوم است. نسبت OD ۴۳۵/۴۱۵ برای نمونه شاهد تقریبا برابر ۱/۱۱۰و برای نمونه‌های مورد در غلظت‌های ۶۰، ۱۰۰ و۲۰۰ ppb به ترتیب ۱/۲۳۴، ۱/۲۳۰ و ۱/۱۹۱ است که نشان‌دهنده افزایش میزان تخریب کلروفیل در نمونه‌های در معرض نسبت به شاهد است. طبق نتایج حاصل، بیشترین تخریب کلروفیل در غلظت ۶۰ ppb دی‌اکسید نیتروژن بوده است.

Gombert و همکاران در تحقیقی که در سال ۲۰۰۵، در خصوص مقایسه اثرات گازهای NO_2 و O_3 در فرانسه بر روی گلسنگ و گیاه تنباکو در محیط شهری انجام دادند، اعلام شد که رابطه معنی‌داری بین تغییرات غلظت گازهای NO_2 و O_3 و تغییرات کلروفیل گلسنگ وجود داشته است و گلسنگ به عنوان یک شاخص حساس به NO_2 و O_3 مطرح است (۱۳).

مطالعات Conti و همکاران نیز نشان داد دو آلاینده مهم SO_2 و NO_2 قادر به نابودی گونه‌های حساس گلسنگ هستند و بین وجود توده‌های خاص گلسنگ در یک منطقه و میزان آلودگی هوا ارتباط مستقیمی وجود دارد (۹).

در تحقیقی که در سال ۲۰۰۶، در ایتالیا توسط Frati و همکاران در خصوص اثرات گازهای NO_2 و NH_3 منتشر شده از ترافیک جاده‌ای روی گلسنگ-های مختلف مطالعه شد، تجمع مقدار زیادی نیتروژن در گلسنگ و کاهش کلروفیل a و b گزارش شد (۱۴).

Silvana Munzi و همکارانش در سال ۲۰۰۸، به بررسی اثر مقداری از ترکیبات نیتروژن که در کودها استفاده می‌شد، در گلسنگ گونه *Xanthoria parietina* پرداختند و به این نتیجه رسیدند که گاز نیتروژن باعث تخریب کلروفیل موجود در این گونه از گلسنگ می‌شود (۱۵).

با استفاده از مطالعات پایش بیولوژیکی و گلسنگ‌ها، امکان تعیین کیفیت هوا و هر گونه اقدام به‌سازی در مورد هوا با توجه به دانش موجود، وجود دارد. دانستن اثرات آلودگی هوا و تنظیم سطوح آلودگی بسیار حایز اهمیت می‌باشد (۱۶،۱۷). از این‌رو، مطالعه گلسنگ‌ها به همراه اثرات آلاینده‌های هوا روی آن‌ها برای جوامع بسیار با ارزش است.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و واحد پزشکی تهران، همچنین شرکت کنترل کیفیت هوا تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Bačkor, M ., Paulikova, K., Geralska, A., Davidson, R., 2003. Monitoring of air pollution in košice (eastern Slovakia) using lichens. Polish Journal of Environmental Studies 12: 141-150.
2. Chakrabortty, S., Tryambakro, G., 2006. Biomonitoring of trace element air pollution using mosses. Aerosol and Ai r Quality Research 6: 247-258.
3. Weinstein, L., John, A., 1989. Biologic markers of air pollution stress and damage in forests. The National Academies of science. 195-198. Available at: http://www.nap.edu/openbook/0309040787/html/197.html.
4. Lyman, J., 2001. Air pollution, lichen and mosses. LORE magazine. Availabe at: http://www.mpm.edu.
5. Gries, C ., Maria, J., Goldsmith, S., 1996. The uptake of gaseous sulphur dioxide by non-glatinous lichens. New phytol 135: 595-602.
6. Environmental Protection Agency Report, 2008. Latest finding on national air quality (status and trends through 2006). EPA-454/R-07-007.
7. United state department of agriculture, 2004. Manual for monitoring air quality using lichens on national forests of the pacific northwest. R6-NR-ARM-TP-02-04.
8. Blett, T., Geiser, L., Porter, E., 2003. Air pollution-related lichen monitoring in national parks, forests, and refuges: Guidelines for studies intended for regulatory and management purposes. U.S department of agriculture & U.S department of interior. available at:, http://www2.nature.nps.gov/ard/pubs/index.htm, http: //www.fs.fed.us /r6/aq/natarm/document.htm.
9. Conti, M. E., Cecchetti, G., 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment–a review. Environmental Pollution 114: 471-492.
10. Froehlich, A., 2006. A look at willamette valley air quality using lichen communities as bioindicators. Portland State University, Research Based Learning.
11. Ronen, R., Galun, M., 1984. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. Environmental and Experimental Botany 24: 239-245.
12. Barnes, J. D., Balaguer, L., Manrique, E., 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. Environmental and Experimental Botany 32: 85-100.
13. Gombert, S., 2005. Lichens and tobacco plants as complementary biomonitors of air pollution in the Grenoble area (Isere, southeast France).
14. Frati, L., Caprasecca, E., Santoni, S., 2006. Effects of NO_2 and NH_3 from road traffic on epiphytic lichens. Environmental Pollution 142: 58-64.
15. Munzi, S., Stergios, A., Loppi, P., Loppi, S., 2008. Chlorophyll degradation and inhibition of polyamine biosynthesis in the lichen *Xanthoria parietina* under nitrogen stress. Ecotoxicology and Environmental Safety 72: 281-285.
16. Nash, T. N., 1996. Lichen biology. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
17. Bennett, J. P., 2006. Lichens and air pollutin. EnviroNews, Newsletter of ISEB India 12: 4-9.