

باسمه تعالی

شورای پژوهش‌های علمی کشور

(کمیسیون کشاورزی)

برنامه ملی تحقیقات

گزارش نهایی

عنوان پروژه: جمع آوری، شناسایی و تجزیه شیمیایی خزها و بررسی

امکان استفاده از آنها در سنجش میزان آلودگی‌ها

مجری پروژه: سعید شیرزادیان

سازمان مجری: سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی

موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی

بخش تحقیقات رستنی‌ها

شماره ثبت پروژه: ۱۵۲۸

زمان شروع و پایان پروژه: از فروردین ۱۳۷۸ تا اسفند ۱۳۸۲

باسمه تعالی

چکیده جامع پروژه

الف- مقدمه و هدف

امروزه مسئله آلودگی محیط زیست نه تنها در کشور ما بلکه در کشورهای پیشرفته دنیا بویژه کشورهای صنعتی، از جمله مسایلی است که هنوز حل نشده و روز به روز مشکل تر و ابعاد پیچیده تری به خود می گیرد. پیشرفت صنایع و احداث کارخانه های جدید در مجاورت شهرها موجب آلودگی های هوا، آب، خاک و یا به عبارت دیگر، سبب آلودگی های زیست محیطی شده که با ازدیاد جمعیت اگر این روند ادامه یابد و کشورها برای خود چاره ای نیاندیشند، روزی خواهد رسید که کره زمین برای بشر غیر قابل سکونت گردد!

با توجه به مقدمه فوق و برای کمک به رفع این معضل، دانشمندان علوم طبیعی دریافتند که می توان از بریوفیت ها (خزه ها) به عنوان ابزار مناسبی در تشخیص آلودگی های هوا، آب و خاک استفاده نمود. استفاده از این نوع گیاهان در مقایسه با راهکارهای دیگر، بروز خطرات زیست محیطی را به صفر رسانده و از هزینه بسیار کمتری نیز برخوردار است. آلاینده های گازی و فلزی با توجه به ساختار و ویژگی های این گیاهان در داخل آنها تجمع یافته که پس از تجزیه قابل ارزیابی می باشند. خزه ها به دلیل نداشتن لایه محافظ کوتیکول در برگ ها، فلزات سنگین و نادر را از محیط اطراف (بخصوص از هوا) به آسانی جذب می نمایند. لذا از این ویژگی (surface absorption) می توان جهت مطالعه و محاسبه جذب مواد معدنی و در نتیجه سنجش آلودگی ها (به عنوان سنجنده بیولوژیک یا زیست نشانگر) استفاده نمود.

از آنجایی که در ایران تا به حال در این زمینه پژوهشی انجام نشده است، لذا هدف اصلی این پروژه پی بردن به موادی است که در اثر آلودگی های زیست محیطی جذب این گیاهان می شوند. بدین منظور، ۳۰ نمونه مختلف از خزه ها از سه استان گلستان، مازندران و گیلان طی یک برنامه زمان بندی شده (در سه مرحله مختلف و در هر مرحله ۱۰ نمونه خزه به همراه بستر یا خاک هر یک) جمع آوری گردید.

ب- سابقه تحقیق (داخل و خارج کشور)

تا به حال در ایران هیچگونه کار تحقیقاتی در مورد سنجش میزان آلودگی ها توسط خزه ها انجام نشده است، اما در خارج از کشور پژوهش های وسیعی در این ارتباط صورت گرفته که به موارد مهم آن ذیلاً اشاره می شود.

به دلیل توان بریوفیت ها در جذب فلزات سنگین که برخی از آنها از جمله سرب، جیوه، آرسنیک و غیره بسیار مهلک می باشند، می توان به تحقیقاتی که توسط Bell (1959) و James (1973) در این زمینه صورت گرفته است اشاره نمود. سپس مطالعات گسترده تری در

دهه‌های هفتاد و هشتاد روی این گیاهان در ارتباط با تعیین میزان فلزات سنگین و آلوده کننده هوا انجام گرفت

(Gilbert 1968, Rühling & Tyler 1969, 1970, 1971, 1973, Roberts 1972, Anderson 1974, Anderson *et al.* 1978, Goodman *et al.* 1974, Johnsen 1974, Pilegaard 1978).

گیاه شناسان دیگری مانند: Huckabee (1973), Czarnowska

LeBlanc *et al.* (1974), Czarnowska & Rejment-Grochowska (1974)

(1974) مشاهده نمودند که بریوفیت‌ها نسبت به گیاهان پیشرفته از قابلیت بیشتری در جذب این گونه فلزات برخوردارند. در سالهای بعد نیز می‌توان به ادامه تحقیقات جالب توجهی که توسط Onianwa & Egunyomi (1983), Richardson, Rasmussen *et al.* (1980), Empain (1985) (1981), Kumar *et al.* (1989), Chopra & Kumra (1988), Shaw (1990), Bargagli *et al.* و Tuba & Csintalan (1993), Steinnes (1993), (1995) صورت گرفت اشاره نمود. اخیراً ترکیبات شیمیایی ۱۳ گونه از خزه‌های تیره Mniaceae به تفصیل توسط Claude *et al.* (2000) به چاپ رسید.

ج- اهداف

- ۱- جمع‌آوری خزه‌های مورد نظر از مناطق تحت بررسی.
- ۲- شناسایی و تعیین نام گونه‌های خزه جمع‌آوری شده و قرار دادن آنها در هرباریوم "IRAN".
- ۳- تجزیه شیمیایی نمونه‌ها و تعیین مقدار عناصر سنگین و سمی هر کدام.
- ۴- بررسی امکان استفاده از نمونه‌های مطالعه شده به منظور سنجش میزان آلودگی‌ها.
- ۵- معرفی گونه‌های بررسی شده در ارتباط با اثبات وجود خواص مذکور در بند ۴ و انتقال اطلاعات به دست آمده به صورت ارایه سخنرانی و پوستر در سمینارها و چاپ مقالات در ژورنال‌های علمی معتبر.

د- روش تحقیق

نمونه برداری‌ها شامل خزه‌ها همراه با بستر هر کدام (خاک) از مناطق مختلف استان‌های گلستان، مازندران و گیلان انجام گردید. از هر استان جمعاً ۱۰ نمونه در نظر گرفته شد. نمونه‌های خزه پس از درج مشخصات لازم جهت شستشو با آب مقطر و انجام آزمایش‌های بعدی به آزمایشگاه و هرباریوم منتقل گردیدند. سپس به طور جداگانه روی صفحات روزنامه در حرارت آزمایشگاه خشک گردیدند. آماده‌سازی نمونه‌ها جهت تعیین مقدار عناصر سنگین موجود همراه با سدیم و پتاسیم با روش E. P. A. (1979) به شرح زیر انجام گردید:

ابتدا تمام ظروف شیشه‌ای مورد نیاز به مدت ۲۴ ساعت در اسید نیتریک ۲۰ درصد قرار داده شد و پس از شستشوی کامل با آب مقطر و خشک نمودن، مقدار ۲۰۰ میلی گرم از هر نمونه

خزه و ۵۰۰ میلی گرم از هر نمونه خاک (بستر) را درون بشر ریخته و روی آن ۱۰ سی سی محلول اسید نیتریک و اسید پرکلریک به نسبت ۳:۱ اضافه گردید. سپس بشرهای محتوی اسید و خزه و اسید و خاک را روی هیتر آنقدر حرارت دادیم تا کاملاً خشک شدند. پس از آن ۱۰ سی سی اسید نیتریک به هر یک اضافه نموده و هر کدام را به طور جداگانه درون ظروف پلی اتیلن ریختیم. ظروف مذکور پس از درج کد مخصوص جهت تعیین مقدار عناصری که در گیاه و بستر مد نظر بودند شامل: Cr, Co, Pb, Cd, Fe, Mn, Ni, Hg, V, Cu, As, Zu, Na, K آزمایشگاه پژوهشگاه صنعت نفت ارسال گردید که نتایج آن در بخش‌های بعدی گزارش آورده شده است. محاسبات آماری با نرم افزار SPSS و گراف‌ها با برنامه Excel و تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن صورت گرفت.

ه- یافته‌های تحقیق

تجزیه شیمیایی ۳۰ نمونه از خزهای جمع‌آوری و شناسایی شده همراه با بستر هر یک جهت سنجش میزان آلودگی‌ها از سه استان تحت بررسی به طور خلاصه نشان داد که مناطق مورد بررسی در استان گلستان نسبت به دو استان مازندران و گیلان از میزان سرب، آرسنیک و کادمیم کمتر و در مقابل از وانادیم و نیکل بیشتر و کرومیوم نسبتاً یکسان با استان مازندران و بیشتر از استان گیلان برخوردار بوده است. بنابراین، به طور کلی، در استان گلستان نسبت به استان‌های مازندران و گیلان، میزان آلودگی‌هایی که توسط این گیاهان مشخص شد کمتر مشاهده گردید (رجوع شود به جداول و نمودارهای ارائه شده در صفحات بعدی گزارش حاضر). جذب جیوه در تمام مناطق استان گلستان مانند دو استان دیگر بسیار ناچیز بود.

و- نتیجه‌گیری

جهت ارزیابی آلودگی‌ها توسط خزه‌ها، نمونه‌های شماره ۹ و ۱۳ از استان مازندران، نمونه‌های شماره ۲۰، ۲۷ و ۳۳ از استان گیلان و نمونه‌های شماره ۵۲، ۵۴ و ۵۵ از استان گلستان، شاخص‌های قابل توجهی در جذب عناصر سمی محسوب گردیدند (رجوع شود به جداول و نمودارهای ارائه شده در صفحات بعدی گزارش حاضر). از آنجا که نمونه‌های خاک مناطق تحت بررسی در هر سه استان به عنوان بستر رشد این گیاهان نیز جمع‌آوری و تجزیه شدند، نتیجه‌گیری شد که جذب عناصر توسط خزه‌ها عمدتاً به جای خاک از طریق هوا صورت گرفته است. مقایسه میانگین عناصر مختلف مورد نظر بین استان‌ها از طریق تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن در قسمت یافته‌ها، نتایج و تحلیل به طور مشروح ارائه و بحث شده است.

ن- پیشنهادها

۱- پس از معرفی و اثبات خزه‌هایی که در این گزارش در جذب عناصر سمی و مهلک موثر بوده‌اند، می‌توان آنها را با روشی موسوم به "Moss Bag Technique"

(Roberts 1972, Goodman *et al.* 1974) در محیط‌های مختلف قرار داد تا بتوان از آنها به عنوان شاخص‌های مناسبی (bioindicators) در جذب و اندازه‌گیری میزان آلودگی هوای منطقه مورد نظر بهره‌مند شد.

۲- از خزها می‌توان مقدار حضور فلزات سنگین موجود در آب رودخانه‌ها را نیز تخمین زد که از این طریق با شناسایی و معرفی گونه‌های مناسب، می‌توان آلودگی‌های آب را هم مشخص نمود.

۳- گازهای آلوده‌کننده‌ای چون SO_2 که پس از مخلوط شدن با آب به صورت باران‌های اسیدی محیط را آلوده می‌نمایند، توسط خزها قابل ارزیابی می‌باشند (Nash & Nash 1974) که نتایج این تحقیقات توسط مراجع ذیربط قابل بهره‌برداری می‌باشد.

۴- پیشنهاد می‌شود که انجام این گونه پروژه‌های تحقیقاتی - کاربردی، از حمایت و تداوم کامل برخوردار شوند. تخصیص اعتبارات کافی، زمان کافی برای انجام پژوهش و حذف مراحل پیچیده اداری که متاسفانه همگی در انجام پژوهش حاضر مشکلات عمده‌ای را برای مجری مسئول به وجود آورده بود، بایستی به طور قطع رفع و مورد توجه مسئولان مربوط قرار گیرد.

شرح محتوای پروژه

۱- مقدمه و هدف

آلودگی‌های زیست محیطی که امروزه گریبانگیر اکثر کشورها و از جمله کشور ما گردیده، معضل بزرگی است که هنوز لاینحل باقی مانده است. با افزایش جمعیت و ادامه این روند، بخصوص در کشورهای در حال توسعه، ناگزیر بایستی از تمام راهکارهای ممکن جهت مهار آن بهره گرفت. اغلب گازهایی که از کارخانه‌ها متصاعد می‌شود حاوی فلزات سمی و خطرناک بوده، مانع رشد گیاهان شده و روز به روز حیات جامعه بشری را به اشکال گوناگون مورد مخاطره قرار می‌دهد. این فلزات که اغلب در ستون چهارم و پنجم جدول تناوبی عناصر قرار داشته و جزو فلزات سنگین محسوب می‌شوند، فلزاتی هستند که چگالی آنها از پنج گرم در هر سانتی‌متر مکعب بیشتر است. فلزاتی که به عنوان آلوده کننده اتمسفر قلمداد می‌شوند عبارتند از: آرسنیک، کادمیم، کرومیوم، کبالت، مس، آهن، منگنز، جیوه، نیکل، وانادیم و روی. از این میان، مس، آهن، منگنز و روی جهت رشد گیاهان ضروری بوده، درحالی که بقیه سمی محسوب می‌شوند. به طور کلی، میزان فلزات در اتمسفر غیر قابل تقلیل بوده و لذا پس از آزاد شدن در اتمسفر به عنوان بخشی از آن به طور پایدار باقی می‌مانند.

در دهه‌های اخیر، دانشمندان دریافته‌اند که یکی از کم‌خطرترین و شاید کم‌هزینه‌ترین راه‌های کنترل این گونه آلودگی‌ها، توسط بریوفیت‌ها (خزه‌ها و هپاتیک‌ها) امکان پذیر است. این گیاهان از نظر مرفولوژیکی ساده‌ترین گیاهان سبزی هستند که در خشکی زندگی می‌کنند و دارای قدرت تولید مثل بالایی بوده و از سوی دیگر، به دلیل کوچکی اندازه و ساختار تغذیه ساده‌شان، به راحتی در آزمایشگاه قابل تکثیر می‌باشند. همچنین برگ‌های آنها فاقد لایه کوتیکول است که نتجتاً می‌توانند فلزات سنگین و نادر را از محیط اطراف خود یعنی هوا، باران، آب و خاک به آسانی جذب نمایند. از این ویژگی (surface absorption) می‌توان از این گیاهان به عنوان ابزاری جهت مطالعه و محاسبه جذب مواد معدنی و در نتیجه سنجش آلودگی‌ها (سنجنده بیولوژیک یا زیست نشانگر) استفاده نمود.

بریوفیت‌ها به دلیل ساختار آناتومیک خاص و توانایی قابل توجه برای جذب آب و عناصر، نسبت به آلودگی‌ها حساسند. به دلیل ویژگی‌های مذکور، سالهاست که توسط دانشمندان به عنوان شاخص‌ها و سنجنده‌های زنده (bioindicators) و در عین حال در بررسی آلودگی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. در صورت افزایش غلظت آلوده کننده‌هایی نظیر گازهای SO_2 ، NO_2 و CO_2 و فلزات سنگین مانند Cr ، Co ، Pb ، Cd ، Fe ، Mn ، Ni ، Hg ، V ، Cu ، As ، Zn و غیره در محیط، مقدار کلروفیل، تنفس، فعالیت نیتروژن سازی و فتوسنتز در این گیاهان محدود و حتی در برخی موارد متوقف می‌گردد. این علائم نشان دهنده افزایش آلودگی در محیط است. همچنین گفته می‌شود که این گیاهان معرف شرایط محیطی خود هستند و با توجه به حساسیت آنها به عنوان ضریب خلوص اتمسفر می‌توانند مانند گل‌سنگ‌ها استفاده شوند. بنابراین، می‌توان در ارزیابی

آلودگی‌های زیست محیطی در مناطقی که این گیاهان حضور دارند از آنان به عنوان سنجنده‌های بیولوژیک (زیست نشانگر) استفاده نمود.

هدف از انجام پژوهش حاضر ضمن تعیین میزان آلودگی‌ها در مناطق تحت بررسی و مقایسه آنها با یکدیگر، معرفی گونه‌هایی از خزهاست که در جذب عناصر مورد نظر فعالیت می‌نمایند. بدین منظور، ۳۰ نمونه از بریوفیت‌ها (خزه) همراه با بستر (خاک) مربوط به هر یک از سه استان مازندران، گیلان و گلستان در سه مرحله زمان‌بندی شده جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت.

۲- مرور منابع علمی

استفاده از بریوفیت‌ها (خزه‌ها و هپاتیک‌ها) به عنوان شاخصی در اندازه‌گیری عناصر سنگین نادر و یا به طور کلی مواد آلوده‌کننده (سمی) که در هوا موجود می‌باشد، تا به حال توسط افراد کثیری در خارج از ایران مورد مطالعه قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به تحقیقاتی که توسط Bell (1959) و James (1973) انجام گرفته است اشاره نمود. در سالهای بعد، بررسی‌های بیشتری در این زمینه صورت گرفت که خود دلیلی است بر تاکید وجود این ویژگی که در بریوفیت‌ها موجود است

(Gilbert 1968, Rühling & Tyler 1969, 1970, 1971, 1973, Anderson 1974, Anderson

et al. 1978, Johnsen 1974, Pilegaard 1978).

دیگر گیاه‌شناسان از جمله: Czarnowska (1974), Huckabee (1973) و همکاران اثبات نمودند که بریوفیت‌ها نسبت به گیاهان پیشرفته از قابلیت بیشتری در جذب فلزات مورد اشاره برخوردارند. Goodman و Roberts و همکاران به ترتیب در سالهای ۱۹۷۲ و ۱۹۷۴ با روشی موسوم به "Moss Bag Technique" موفق شدند با قرار دادن و آویزان کردن کیسه‌هایی که محتوی برخی گونه‌های مورد نظر از خزها در محیطی که آلودگی هوا در آن موجود بود و به علاوه نگهداری همان گونه‌ها به عنوان کنترل (شاهد) در محل دیگری فاقد هر نوع آلودگی، میزان آلودگی هوای محل مورد نظر را تعیین نمایند. بدین منظور، پس از تجزیه شیمیایی خزهای دو محل، مقدار مواد معدنی و فلزی موجود پس از مقایسه آنها با یکدیگر مشخص گردید.

اینگونه مطالعات توسط محققان در کشورهای مختلف جهان به شرح ذیل ادامه یافت:

Rasmussen *et al.* (1980), Richardson (1981), Onianwa & Egunyomi (1983), Empain (1985), Onianwa (1987), Rühling *et al.* (1987), Chopra & Kumra (1988), Kumar *et al.* (1989), Shaw (1990), Shaw *et al.* (1987, 1989), Steinnes (1993), Tuba & Csintalan (1993), Pietrobon (1994), Bargagli *et al.* (1995), Claude *et al.* (2000).

از سوی دیگر، خزها مقاومت زیادی در مقابل تغییر pH (اسیدی و قلیایی بودن) خاک و آب

از خود نشان می‌دهند. به عنوان مثال اسفاگنوم (*Sphagnum*) مقدار فراوانی جیوه، سرب و روی توسط آب جذب می‌کند. در این راستا Kelly و همکاران در سال ۱۹۸۷ از گیاهان مذکور جهت سنجش مقدار فلزات سنگین موجود در آب رودخانه‌ها استفاده کردند.

یکی از گازهای آلوده کننده گاز SO_2 می‌باشد. از این دیدگاه نیز حساسیت خزها با توجه به ویژگی‌هایی که دارند (فعال‌ترین گیاهان در طول مدت سال، عدم وجود کوتیکول در گامتوفورها و همواره مرطوب بودن سطح این گیاهان) حساسیت بسیار بالایی داشته، لذا این گاز قبل از جذب به طور مداوم در آب حل شده (مانند باران‌های اسیدی) تا زمانی که تعادل برقرار گردد. پس می‌توان نتیجه گرفت که خزها حساسترین گیاهان نسبت به این گاز بوده (Nash & Nash 1974) و قادرند در ژئوشیمی مانند ابزاری در سنجش مواد مورد استفاده قرار گیرند.

Richardson در سال ۱۹۸۱ در کتاب جالب خود در ارتباط با ارزیابی میزان آلودگی هوا توسط این گیاهان به مراجع و منابع مختلف اشاره نموده است. اخیراً Claude و همکاران در سال ۲۰۰۰

با تجزیه این گیاهان به نتایج جدیدتر و قابل توجهی دست یافتند.

با توجه به مطالب مذکور، مشخص می‌گردد که این گیاهان تا چه اندازه قادرند به عنوان ابزاری بیولوژیک در سنجش آلودگی‌ها مورد استفاده قرار گیرند. متأسفانه تا به حال در ایران هیچگونه کار تحقیقاتی در این خصوص انجام نگرفته است. لذا با اجرای این طرح سعی گردید تا ضمن آشنایی علاقمندان به این گیاهان، بتوان با ایجاد پایه‌ای، کاربرد آنها را در این زمینه در کشور معرفی و اثبات نمود.

۳- مطالعات نظری

جهت مطالعه و آزمایش بریوفیت‌ها در خصوص استفاده از آنها در سنجش میزان آلودگی‌ها، ابتدا نیاز به جمع‌آوری نمونه‌هایی از خزها بود. بدین منظور، طی ماموریت‌های متفاوت به سه استان در نظر گرفته شده (استان‌های گلستان، مازندران و گیلان)، از هر استان ۱۰ نمونه گیاه همراه با بستر هریک (جمعا ۳۰ نمونه) جمع‌آوری گردید. نام گونه‌های شناسایی شده در جداول ۲ تا ۴ همراه با اطلاعات دیگر شامل نام عناصر مورد بررسی آورده شده است.

۴- روش تحقیق، فعالیت‌های علمی و آزمایشگاهی

نمونه‌های خزها همراه با بستر (خاک) رویش از مناطق مختلف سه استان مورد نظر شامل استان مازندران (جنگل‌های دو هزار و سه هزار، مسیرهای عباس آباد به سمت کلاردشت و تنکابن به جنت رودبار)، استان گیلان (مسیرهای سیاهکل به سمت دیلمان و فومن به ماسوله) و استان

گلستان (جنگل‌های توسکاستان، شמושک، ناهار خوران و زیارت) طی انجام چندین ماموریت در تابستان سال ۱۳۷۸ جمع‌آوری گردیدند.

نمونه‌های جمع‌آوری شده را پس از خشک کردن در سایه و هوای آزاد به طور جداگانه در کیسه‌های نایلونی قرار داده و روی هر یک مشخصات صحرائی الصاق و بعد به آزمایشگاه جهت انجام مراحل بعدی منتقل گردید. در آزمایشگاه، هر یک از نمونه‌های خزه به طور جداگانه به دقت تمیز شد تا عاری از مواد اضافی مانند برگ و بذور گیاهان و غیره گردد. سپس بخشی از هر یک از نمونه گیاه را چندین بار با آب مقطر به کمک فشار پیست محتوی آب مقطر شستشو داده و بعد روی قطعات روزنامه در درجه حرارت آزمایشگاه مجدداً خشک گردیدند. بخش دیگر هر نمونه خزه جهت شناسایی و تعیین نام برای نگهداری در هر بار بوم "IRAN" در نظر گرفته شد که این کار به کمک فلورهای معتبر انجام گردید. در مورد بستر (خاک) نیز بدین صورت عمل شد که خاک‌ها را ابتدا درون سینی‌های پلاستیکی پهن کرده و چند روز در حرارت اتاق خشک کرده و سپس طی مراحل زیر آماده سازی نمونه‌ها (شامل گیاه و خاک) برای ارسال به آزمایشگاه پژوهشگاه صنعت نفت جهت تعیین میزان عناصر سنگین همراه با سدیم و پتاسیم صورت گرفت (شکل ۱).

تجزیه عناصر با روش E. P. A. (1979) انجام گردید، بدین ترتیب که ابتدا تمام ظروف شیشه‌ای (شامل بشرها، قیف‌ها، ارلن‌ها و غیره) مورد استفاده به مدت ۲۴ ساعت در اسید نیتریک ۲۰ درصد قرار داده شد. دلیل انجام این کار آن است که اگر ظروف مورد مصرف در اسید قرار گیرند، یون H^+ جذب نموده و هنگام آزمایش‌ها هیچیک از عناصر سنگین جذب دیواره ظروف نشده و تماماً در خود محلول حفظ خواهند شد. بشرهای شسته شده با اسید ابتدا با آب و بعد با آب مقطر آب کشی و خشک گردیدند. پس از اطمینان از خشک شدن کامل نمونه‌ها، ۲۰۰ میلی‌گرم (۰/۲g) از هر نمونه خزه پودر شده و ۵۰۰ میلی‌گرم (۰/۵g) از هر نمونه خاک را درون بشرهای کوچک ریخته و درون هر یک ۱۰ سی سی محلول اسید نیتریک و اسید پر کلریک به نسبت ۳:۱ اضافه گردید. نسبت ۳:۱ به این ترتیب بود که ۲۰۰ سی سی اسید نیتریک با ۶۶/۶ اسید پر کلریک در یک سیلندر مدرج (مزور) استریل (شستشو به روش مذکور) مخلوط گردید و بشرهای محتوی اسید- خزه و اسید- خاک روی هیتر آنقدر حرارت داده تا کاملاً خشک گردیدند. عمل خشک شدن زیر هود انجام گرفت تا فاقد ورود هرگونه آلودگی باشد. سپس روی هر یک ۱۰ سی سی اسید نیتریک اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت، محلول‌ها با قیف شیشه‌ای استریل به کمک کاغذ صافی فیلتر گردید. محلول‌های اسید- خزه و اسید- خاک را به طور جداگانه درون ظروف پلی‌اتیلن استریل جهت ارسال به آزمایشگاه پژوهشگاه صنعت نفت جهت تعیین مقدار عناصر سنگین همراه با سدیم و پتاسیم موجود در آنها ارسال گردید که نتایج نمونه‌های هر استان در جداول ۲ تا ۴ همراه با اطلاعات دیگر شامل نام مناطق بررسی شده و اسامی گونه‌های خزه مورد آزمایش در قسمت یافته‌ها و نتایج آورده شده است.

تعداد ۱۲ فلز سنگین به اسامی: Zu, Hg, Fe, Mn, Cr, Cu, Pb, Cd, Ni, Co, V, As به علاوه Na و K که اغلب برای رشد گیاهان و محیط زیست سمی و خطرناک محسوب

می‌شوند، در نمونه‌های گیاه و خاک بررسی و استخراج گردید. ضمناً در ردیف اول هر جدول بلانک منظور گردیده است. بلانک حلالی است که برای نمونه‌ها به کار برده شده است. مقادیر حاصله از تجزیه محلول بلانک را می‌توان از مقادیر هر عنصر در هر نمونه کسر نمود، ولی در اینجا به دلیل ناچیز بودن این ارقام از آنها صرف‌نظر گردیده است.

۵- فعالیت‌های میدانی و آماری

مقایسه میانگین عناصر مختلف بین استان‌ها (مازندران، گیلان و گلستان) از طریق تجزیه واریانس و آزمون دانکن:

As

از نظر مقدار آرسنیک تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($\alpha < 0.05$) بین استان‌ها دیده می‌شود. بالاترین مقدار مربوط به استان گیلان می‌باشد (۲/۶۴۴ppm) که تفاوت معنی‌دار با میانگین‌های استان‌های مازندران و گلستان (به ترتیب ۰/۵۱۲۲ و ۰/۷۷۲) دارد ولی بین استان‌های مازندران و گلستان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($\alpha > 0.05$).

Cd

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار کادمیم در سطح کمتر از ۵ درصد ($\alpha < 0.05$) تفاوت معنی‌دار وجود دارد. استان گیلان با ۹/۲۵ppm تفاوت معنی‌داری را با استان‌های مازندران و گلستان نشان می‌دهد ولی بین استان‌های مازندران و گلستان (به ترتیب ۰/۲۴۵ و ۰/۵۵۵) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.05$).

Co

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار کبالت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($\alpha > 0.05$).

Cr

از نظر مقدار کرومیوم مقایسه میانگین سه استان نشان می‌دهد که آزمون در سطح معنی‌داری کمتر از ۵ درصد ($\alpha < 0.05$) معنی‌دار است. میانگین استان گلستان ۱۰/۷۲۵ ppm می‌باشد که تفاوت معنی‌دار با استان‌های مازندران و گیلان دارد ولی بین میانگین‌های استان‌های مازندران و گیلان (به ترتیب ۴/۸۲ و ۳/۲۰۳) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

Cu

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار مس تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.05$).

Fe

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار آهن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.5$).

Hg

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار جیوه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.5$).

K

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار پتاسیم در سطح کمتر از یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($\alpha < 0.1$). پتاسیم در استان گیلان ۴۶۶۰ ppm می‌باشد که از دو استان دیگر بیشتر بوده و تفاوت معنی‌داری با آنها دارد ولی استان‌های مازندران و گلستان (به ترتیب ۱۹۳۴ و ۱۹۴۶) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهند.

Mn

از نظر مقدار منگنز بین استان‌های مختلف تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($\alpha > 0.5$).

Na

از نظر مقدار سدیم بین هر سه استان با یکدیگر تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از یک درصد ($\alpha < 0.1$) وجود دارد. استان گیلان با میانگین ۶۴۴ ppm بیش از همه و سپس استان گلستان با ۴۸۸ ppm در مقام دوم و استان مازندران با ۳۰۷ ppm در مکان سوم قرار دارد.

Ni

از نظر مقدار نیکل استان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($\alpha > 0.5$).

Pb

از نظر مقدار سرب تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از یک درصد ($\alpha < 0.1$) وجود دارد. بالاترین میزان سرب مربوط به استان گیلان با ۳۵۷/۲۲ ppm می‌باشد که با دو استان دیگر تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد. استان‌های مازندران و گلستان به ترتیب با میانگین‌های ۱۵/۷۶۵ و ۱۱/۹۶ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

V

از نظر مقدار وانادیم استان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($\alpha < 0.5$).

Zn

بین استان‌ها از نظر مقدار روی در سطح ۵ درصد ($\alpha < 5\%$) تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود. بالاترین مقدار مربوط به استان گیلان با ۴۲۹ppm و بعد از آن استان گلستان با ۱۱۹/۲ و در آخر استان مازندران با ۴۹/۱ppm قرار گرفته است.

خلاصه نتایج تجزیه واریانس و آزمون دانکن در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- خلاصه تجزیه واریانس و آزمون دانکن عناصر مختلف مورد مطالعه در سه استان گیلان، مازندران و گلستان (میانگین‌ها بر حسب ppm)

عنصر	Cr	Cu	Fe	Hg	K	Mn
F	*	ns	ns	ns	**	ns
	۴/۲۲	۰/۳۱	۰/۱	۰/۲۱	۱۵/۱۳	۰/۷۸
گیلان	۳/۲۰۳ b	۱۵/۱۴ a	۴۸۹۴/۵a	۰/۰۸۸ a	۴۶۶۰ a	۱۵۳/۶ a
مازندران	۴/۸۲ b	۱۱/۰۱ a	۳۷۴۴ a	۰/۰۹۴ a	۱۹۳۴ b	۲۱۰/۵ a
گلستان	۱۰/۷۲۵ a	۱۱/۶۵ a	۴۵۰۸ a	۰/۰۸۸ a	۱۶۴۶ b	۲۵۷ a

Na	Ni	Pb	V	Zn	As	Cd	Co
**	ns	**	ns	*	*	*	ns
۱۳/۹۴	۰/۵	۵/۲	۰/۵	۳/۴۷	۳/۶۷	۴/۸	۰/۲۲
۶۴۴ a	۱۹/۷۷ a	/۲۲a ۳۵۷	۸/۱۶۵ a	۴۲۹ a	۲/۶۴ a	۹/۲۵ a	۴/۶۹ a
۳۰۷ c	۱۵/۳۵ a	۱۵/۷۶۵b	۷/۴۶۵ a	۴۹/۱ c	۰/۵۱ b	۰/۲۵ b	۳/۸۵ a
۴۸۸ b	۷۱/۱ a	۱۱/۹۶ b	۶/۹۳۴ a	۱۱۹/۲ b	۰/۷۷ b	۰/۵۵ b	۲/۸۶ a

ns عدم معنی‌داری
* معنی‌دار در سطح ۵ درصد
** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

۶- یافته‌ها، نتایج و تحلیل آنها

به منظور سنجش میزان آلودگی‌ها در سه استان تحت بررسی (استان‌های مازندران، گیلان و گلستان)، با توجه به جداول ۱ تا ۴ ارزیابی شده در بند ۵ (فعالیت‌های میدانی و آماری)، پس از جمع‌آوری و تجزیه شیمیایی ۳۰ نمونه خزّه همراه با بستر (خاک) در هر یک از مناطق مذکور، مشخص شد که استان گلستان نسبت به دو استان دیگر یعنی مازندران و گیلان از میزان سرب، آرسنیک و کادمیم کمتر و در مقابل از وانادیم و نیکل بیشتر و کرومیوم نسبتاً یکسان با استان مجاور یعنی مازندران و بیشتر از استان گیلان برخوردار بود. لذا استان گلستان نسبت به دو استان دیگر با توجه به نمونه‌ها و تاریخ نمونه‌برداری (جداول ۲ تا ۴) آلودگی کمتری را نشان می‌دهد. جذب جیوه که یکی از عناصر خطرناک محسوب می‌شود در تمام مناطق این استان همانند دو استان دیگر ناچیز بود. با مشخص شدن مقدار غلظت هر یک از عناصر مورد نظر پس از تجزیه هر یک از گونه‌هایی توان دریافت که منطقه تا چه اندازه از آلودگی برخوردار بوده است.

واریانس غلظت مواد در ۳۰ نمونه جمع‌آوری و مطالعه شده از سه استان تحت پوشش در مورد آهن، منگنز و پتاسیم از عناصر دیگر بیشتر بود (نمودارهای ۶۰-۱)، در صورتی که میزان عناصر مورد نظر در داخل هر یک از استان‌ها کاملاً نتایج متغیری را نشان داد (نمودارهای ۷۴-۶۱). گفتنی است که در مجموع، مقدار عناصر مورد نظر در خاک (بستر) در هر سه استان از مقدار آنها در خزّه‌های بررسی شده بیشتر بوده است. نمونه‌های خاک مناطق تحت بررسی در تمام استان‌های مورد آزمایش به عنوان بستر رشد خزّه‌ها نیز جمع‌آوری و سپس تجزیه گردیدند، اما نکته جالب توجه آن است که با این که ثابت شده است که جذب عناصر به وسیله این گیاهان عمدتاً به جای خاک از طریق هوا انجام می‌گیرد، ولی نتایج حاصله از تجزیه خاک نیز به نتایج به دست آمده از هر یک از نمونه‌های خزّه شباهت نسبتاً نزدیکی را نشان داد. در همین ارتباط، مشخص شد که مقدار عناصر جذب شده توسط هر یک از نمونه‌هایی که چه از روی خاک (به صورت خاکری) و چه از روی تنه درختان (به صورت اپیفیت) جمع‌آوری شده بود در میزان جذب عناصر تفاوتی نداشته است. این موضوع تایید می‌نماید که بریوفیت‌ها (خزّه‌ها) عناصر را عمدتاً از طریق هوا جذب می‌نمایند و این مسئله به بستر آنها ارتباط مستقیم ندارد. نتایج به دست آمده با تحقیقات انجام شده توسط Onianwa (1987) مطابقت داشت. به عنوان مثال، در خصوص مقدار کبالت که حفظ آن در گیاهان بسیار اندک می‌باشد و همین طور کرومیوم در مقایسه با عناصر دیگر بسیار کمتر بود. این امر احتمالاً به دلیل افزایش غلظت یونی سدیم و روی می‌باشد. از طرف دیگر، نمونه‌های تحت بررسی مقدار بیشتری پتاسیم نسبت به سدیم جذب نمودند.

طبق نظر Rühling & Tyler (1969, 1971) و Groet (1976)، خزّه‌هایی که از ارتفاعات بیشتری جمع‌آوری می‌شوند، مقدار بیشتری عناصر جذب می‌نمایند که این ویژگی نیز می‌تواند در شاخص‌های اندازه‌گیری در آزمایشات انجام شده دخیل باشد. ذکر این نکته قابل توجه است که افزایش مقادیر برخی عناصر سمی هیچ گونه مسمومیت در خود گیاه به وجود نیآورده

اسـت،
در صورتی که ازدیاد فلزاتی چون مس، روی و سرب معمولاً سمی گزارش شده است (Shaw 1987, 1990; Shaw et al. 1987). اگرچه با مراجعه به جداول ۲ تا ۴ افت در جذب مقدار مس در خزها مشهود گردید، ولی از سوی دیگر فاکتورهای نسبتاً بالایی برای فلزاتی چون نیکل، روی، منگنز و آهن از بستر (خاک) مشاهده گردید. علیرغم گرایش این گیاهان به حفظ سطح تراکم در فلزات مذکور، ضرورتاً آنها نمی‌توانند تنها شاخص‌هایی باشند که بتوان در اندازه‌گیری آلودگی‌ها استفاده نمود. خزها به هر حال نسبت به بسیاری از نشانگرهای دیگر به عنوان شاخص‌های طبیعی و به کمک روش‌های ساده‌تر قابل استفاده می‌باشند. جداسازی و یا تصفیه مواد از خاک‌های سطحی نسبت به انجام این گونه کارها با دیگر روش‌ها مشکلتر، پرهزینه‌تر و یا با دقت کمتر همراه است.
از سوی دیگر، طبق نظر Shacklette (1965) که آزمایشاتی روی ۴۳ عنصر یافت شده در بریوفیت‌ها انجام داد، تعداد ۱۶ عنصر را برای رشد آنها ضروری تشخیص داد. ناگفته نماند که میزان مواد موجود در آب باران و رطوبت هوا نیز در جذب این عناصر بسیار موثر بوده است (Anderson et al. 1978).

با توجه به کل نمودارهای ترسیم شده (۱-۷۶) و تجزیه و تحلیل هر یک مشخص گردید که نمونه‌های شماره ۹ [*Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) Kop.] و ۱۳ [*Brachythecium acuminatum* (Hedw.) Aust.] در استان مازندران، نمونه‌های شماره ۲۰ [*Rhynchostegium riparioides* (Hedw.) Card.]، ۲۷ [*T. recognitum* (Hedw.) ۳۳ و [*Thuidium abietinum* (Hedw.) B.S.G.] Lindb.] در استان گیلان و نمونه‌های شماره ۵۲ [*Homalothecium megaptilum* (Sull.) ۵۴ Robins.] و ۵۵ [*Brachythecium salebrosum* (Web. & Mohr) B.S.G.] در استان گلستان، شاخص‌های قابل توجهی در جذب عناصر سمی محسوب گردیدند (جداول ۲ تا ۴). با مقایسه برخی گونه‌های شناسایی شده در یک یا دو استان به طور مشترک مشاهده و جمع‌آوری و سپس مورد آزمایش قرار گرفتند نیز نتایج قابل توجهی به شرح زیر به دست آمد. به عنوان مثال: *Brachythecium acuminatum* (Hedw.) Aust.؛ *Rhynchostegium riparioides* (Hedw.) Card. نمونه‌های شماره ۱۳ و ۱۴ جمع‌آوری شده بودند، همان طور که قبلاً نیز اشاره گردید عناصر سمی را به خود جذب نموده، در حالی که همین گونه‌ها از استان گیلان (به ترتیب نمونه‌های شماره ۱۸ و ۲۰) مقاومت بیشتری را نسبت به عناصر سمی از خود نشان دادند و یا به عبارت دیگر عناصر کمتری جذب نموده‌اند. به همین ترتیب *Homalothecium megaptilum* (Sull.) Robins. جمع‌آوری شده از استان‌های مازندران (نمونه شماره ۲۳) و گلستان (نمونه شماره ۵۲) نتایج مشابهی را نشان دادند. *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) Kop. جمع‌آوری شده از استان مازندران (نمونه شماره ۲۱) نیز نسبت به جذب کلیه عناصر از خود مقاومت چشمگیری بروز

داده است. بنابراین، آیا گونه‌های مذکور قادرند همیشه در مناطق مختلف به طور یکسان و یکنواخت عمل نمایند، پرسشی است که فقط با تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌توان به آن پاسخ دقیق ارایه نمود. در این مقطع صرفاً می‌توان نتیجه گرفت که از این نظر بریوفیت‌ها دو دسته‌اند: دسته اول، آنهایی که به آلودگی‌ها واکنش نشان داده و بسیار حساس عمل می‌کنند و دسته دوم، آنهایی که همواره از خود مقاومت نشان می‌دهند. Shaw و همکارانش در سال ۱۹۸۷ در تحقیقاتشان متوجه شدند که گونه‌ای از خزها به نام *Physcomitrium pyriforme* (Hedw.) Brid. پنج جمعیت متفاوت همواره توانسته بود در همه جا نسبت به فلز روی از خود مقاومت نشان دهد. در این راستا از دما، ارتفاع، میزان رطوبت یا بارندگی و غیره می‌توان به عنوان عوامل اثرگذار نام برد. مرفولوژی و شکل ظاهری خود گیاه نیز در این ارتباط از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در اینجا لازم به ذکر است که در تحقیقات انجام شده توسط نگارنده (مجری طرح) مسمومیت در هیچیک از گونه‌های تحت بررسی، حتی زمانی که مقدار برخی فلزات مانند روی از حد نسبی بالایی برخوردار بود ملاحظه نگردید. لذا مشاهده این آزمایشات بیانگر این حقیقت است که خزها نقش مهمی را در چرخه غذایی و اکوسیستم ایفاء می‌نمایند و قادرند به عنوان ابزار بیولوژیک (زیست نشانگر) جهت تعیین مقدار عناصر سنگین از محیط اطراف خود مورد استفاده قرار گیرند.

Folkesson (1981) بیان می‌دارد که نمونه خزهایی را که از مجاورت کارخانه‌ها در کشور فنلاند جمع‌آوری و تجزیه نموده است، از میزان مس و کرومیوم بالایی برخوردار بوده است، در حالی که این موضوع در میزان جذب کلسیم و منگنز صادق نبوده است. از آنجایی که در تحقیق حاضر عوامل اثرگذار بر آلودگی مناطق تحت بررسی، هر یک به طور جداگانه مورد نظر نبوده، لذا پیشنهاد می‌شود که با حمایت از اجرای چنین پروژه‌هایی بتوان در آینده، حضور دیگر عوامل و تاثیر منفی آنها را بر محیط زیست به کمک این گیاهان مورد بررسی قرار داد. مقایسه میانگین عناصر مورد نظر بین هر یک از استان‌های مازندران، گیلان و گلستان به کمک تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن (جدول ۱) صورت گرفت.

(باسمه تعالی)

خلاصه دست‌آوردها و یافته‌های حاصل از اجرای پروژه پژوهشی برنامه ملی تحقیقات کشور

- **عنوان پروژه:** جمع‌آوری، شناسایی و تجزیه شیمیایی خزها و بررسی امکان استفاده از آنها در سنجش میزان آلودگی‌ها.
- **شماره ثبت:** ۱۵۲۸
فروردین ۱۳۷۸ تا اسفند ۱۳۸۲
- **نام سازمان مجری:** سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی - **نام مجری:** سعید شیرزادیان (موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی)

- چکیده:

خزها (بریوفیت‌ها) به دلیل ساختار آناتومیک ویژه و توانایی قابل توجه‌شان برای جذب آب و عناصر، نسبت به آلودگی‌ها بسیار حساسند. به این خاطر، سالهاست که توسط دانشمندان به عنوان شاخص‌ها یا نشانگرهای بیولوژیک در بررسی آلودگی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. از آنجایی که در ایران در زمینه بررسی امکان استفاده از این گیاهان در سنجش میزان آلودگی‌ها، پژوهش‌های کمی انجام شده است، پژوهش‌های تالیفات

به امروز انجام نشده است، لذا هدف اصلی این پروژه پی‌بردن به موادی است که در اثر آلودگی‌های زیست محیطی جذب این گیاهان می‌شوند و این که تا چه اندازه می‌توان در این خصوص از آنها استفاده نمود. بدین منظور، ۳۰ نمونه مختلف از آنها از سه استان گلستان، مازندران و گیلان طی یک برنامه زمان بندی شده (در سه مرحله مختلف و در هر مرحله ۱۰ نمونه) جمع‌آوری گردید. سپس تعداد ۱۲ فلز سنگین (heavy metals) به همراه بستر یا خاک هر یک (جمع‌آوری گردید) سنجش شد. اسامی:

Zu, Hg, Fe, Mn, Cr, Cu, Pb, Cd, Ni, Co, V, As به علاوه Na و K که اغلب برای رشد گیاهان و محیط زیست سمی و خطرناک محسوب می‌شوند، در نمونه‌های جمع‌آوری شده (شامل بریوفیت‌ها و خاک یعنی بستر رویش هر یک) استخراج و مورد بررسی قرار گرفت.

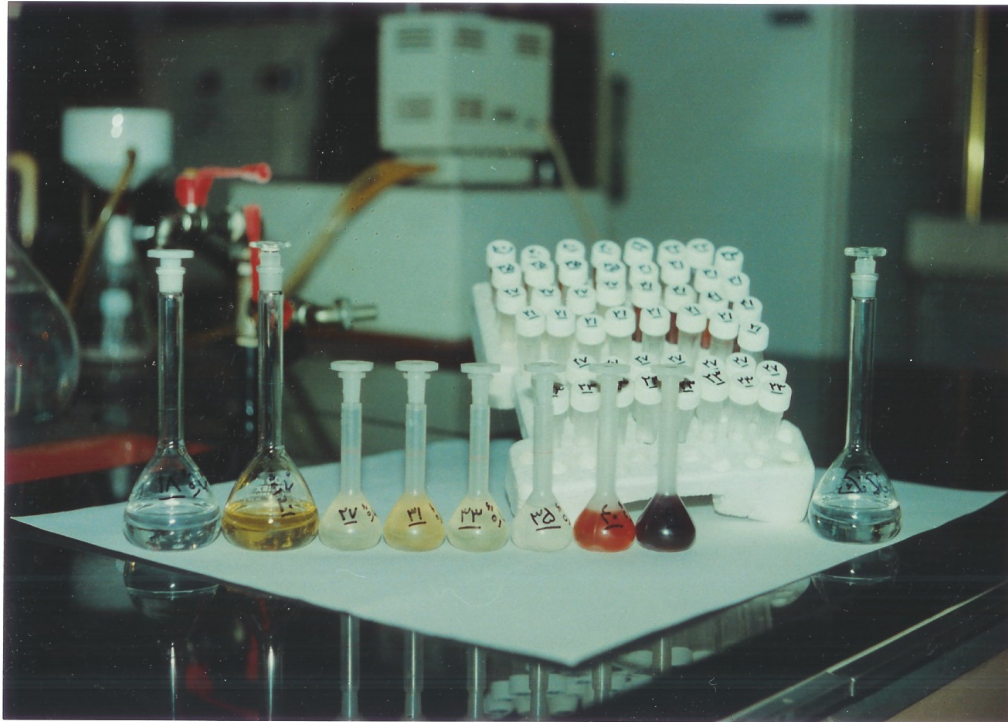
تجزیه شیمیایی ۳۰ نمونه از خزهای جمع‌آوری و شناسایی شده همراه با بستر (خاک) هر یک جهت سنجش میزان آلودگی‌ها از سه استان تحت بررسی، به طور خلاصه نشان داد که مناطق مورد نظر در استان گلستان نسبت به دو استان مازندران و گیلان از میزان سرب، آرسنیک و کادمیم کمتر و در مقابل از وانادیم و نیکل بیشتر و کرومیوم نسبتاً یکسان با استان مازندران و بیشتر از استان گیلان برخوردار بوده است. بنابراین، به طور کلی، در استان گلستان نسبت به استان‌های

مازندران و گیلان، میزان آلودگی‌هایی که توسط این گیاهان مشخص شد کمتر مشاهده گردید. جذب جیوه در تمام مناطق استان گلستان مانند دو استان دیگر بسیار ناچیز بود. از آنجایی که نمونه‌های خاک مناطق تحت بررسی در هر سه استان به عنوان بستر رشد این گیاهان نیز جمع‌آوری و تجزیه شدند، نتیجه‌گیری شد که جذب عناصر توسط خزها عمدتاً به جای خاک از طریق هوا صورت گرفته است. لذا، مشاهده این آزمایش‌ها بیانگر این حقیقت است که خزها علاوه بر قابلیت‌های خاصی که دارند، نه تنها نقش مهمی را در چرخه غذایی و اکوسیستم ایفاء می‌نمایند، بلکه قادرند به عنوان زیست‌نشانگرهای (bioindicators) قابل توجهی جهت تعیین مقدار عناصر سنگین در محیط اطراف خود محسوب و مورد استفاده قرار گیرند.

مقایسه میانگین عناصر مختلف مورد نظر بین استان‌ها از طریق تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن صورت گرفت.

- مشخصات مقالات حاصل از اجرای پروژه:

ردیف	عنوان مقاله	زمان ارایه	نام همایش یا نشریه علمی - پژوهشی که در آن ارایه یا چاپ شده (با ذکر شماره)
۱	سنجش میزان آلودگی‌های زیست محیطی توسط خزها.	خرداد ۱۳۷۸	کنفرانس سراسری محیط زیست - اردبیل
۲	مطالعه نقش خزها در ارزیابی آلودگی‌ها در استان‌های شمالی کشور.	شهریور ۱۳۷۹	چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران - اصفهان
۳	بررسی امکان استفاده از خزها در سنجش میزان آلودگی‌ها.	۱۳۸۴	مقاله کاملی جهت چاپ در دست تهیه است.



شکل ۱- آماده سازی و عصاره‌گیری از نمونه‌های خزّه و خاک جهت تجزیه عناصر مورد نظر در آزمایشگاه.

۷- منابع و ماخذ

فارسی:

میرزایی، معصومه. ۱۳۷۸. بررسی ویژگی‌های ریخت شناسی، ساختاری و تکوینی برخی خزه‌های ایران و اثرات ضد میکروبی آنها. رساله دکترای زیست شناسی گیاهی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات (تهران).

غیر فارسی:

- Anderson, A. 1974. Heavy metals in the moss *Dicranoweisia cirrata* (Hedw.) Lindb. transplanted to the Copenhagen area. M.Sc. Thesis. Institute of Plant Ecology. University of Copenhagen.
- Anderson, A., M. F. Hovmand and I. Johnsen. 1978. Atmospheric heavy metal deposition in the Copenhagen area. Environ. Pollut. 17: 133-151.
- Bargagli, R., D. H. Brown and L. Nelli. 1995. Metal biomonitoring with mosses: Procedures for correcting for soil contamination. Environ. Pollut. 89 (2): 169-175.
- Barkman, J. J. 1958. Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes: Assen (Netherlands), Van Gorcum and Co. 628.
- Bell, P. R. 1959. The ability of *Sphagnum* to absorb cations preferentially from dilute solutions resembling natural water. J. Ecol. 47: 351-355.
- Brown, D. H. 1984. Uptake of mineral elements and their use in pollution monitoring. The experimental biology of bryophytes. 229-255. Academic Press, New York.
- Claude, S., G. Bourgeois and T. Koponen. 2000. Some chemical constituents of thirteen mosses from the traditional Mniaceae family. J. Hattori Bot. Lab. 89: 233-246.
- Chopra, R. N. and P. K. Kumra. 1988. Biology of Bryophytes. Wiley Eastern Ltd. New Delhi. 350 p.p.
- Czarnowska, K. 1974. The accumulation of heavy metals in soil and plants in Warsaw area (exemplified by grasses and mosses). Pol. J. Soil Sci. 7: 117-122.

- Czarnowska, K. and I. Rejment-Grochowska. 1974. Concentration of heavy metals-iron, manganese, zinc and copper in mosses. *Acta Soc. Bot. Pol.* 43: 39-44.
- Empain, A. 1985. Heavy metals in bryophytes from Shaba province. *In: Brooks, R. R., F. Malaisse and A. A. Balkema (eds.). The Heavy metal-tolerant flora of south central Africa. Boston, pp. 103-117.*
- E. P. A. 1979. Methods for chemical analysis of water and waste. United States Environmental Protection Agency 600/4-79-020, Cincinnati, OH.
- Folkesen, L. 1981. Heavy-metal accumulation in the moss *Pleurozium schreberi* in the surrounding of two peat-fired power plants in Finland. *Ann. Bot. Fennici* 18: 245-253.
- Gilbert, O. L. 1968. Bryophytes as indicators of air pollution in the Tyne Valley. *New Phytologist* 67: 15-30.
- Goodman, G. T., S. Smith, G. D. R. Parry and M. J. Inskip. 1974. The use of moss-bags as deposition gauges for airborne metals, pp. 1-16. *Proc. 41st. Conf. Nat. Soc. Clean Air, Brighton, U.K.*
- Groet, S. S. 1976. Regional and local variation in heavy metal concentrations of bryophytes in the northeastern United States. *Oikos* 27: 445-456.
- Huckabee, J. W. 1973. Mosses: Sensitive indicators of airborne mercury pollution. *Atmos. Environ.* 7: 749-754.
- James, P. W. 1973. The effect of air pollutants other than hydrogen fluoride and sulphur dioxide on lichens. *In: Air Pollution and Lichen (ed. by B. W. Ferry, M. S. Baddeley and D. L. Hawksworth).* 143-175.
- Johnsen, I. 1974. The influence of the emission on vegetation: biological indication of sulphur dioxide and heavy metal using epiphytic cryptogams. Ph.D. Thesis. University of Copenhagen.
- Kelly, M. G., C. Girton and B. A. Whitton. 1987. Use of moss-bags for monitoring heavy metals in rivers. *Water-Res.* 21 (11): 1429-1435.
- Kumar, S. S., P. L. Uniyal and P. Kaur. 1989. Heavy metal deposition in some mosses of Garhwal Himalaya. *Yushania* 6 (3): 9-14.

- Leblanc, F., G. Robitaille and D. N. Rap. 1974. Biological responses of lichens and bryophytes to environmental pollution in the Murdochville Copper Mine area, Quebec. *J. Hattori Bot. Lab.* 38: 405-433.
- Nash, T. H. and E. H. Nash. 1974. Sensitivity of mosses to sulphur dioxide. *Oecologia (Berl.)* 17: 257-263.
- Onianwa, P. C. 1987. Monitoring regional gradients in atmospheric heavy metal pollution: A comparative application of top-soil, epiphytic moss and plant litter as indicators. *Environ. Monit. Assess.* 11: 25-31.
- Onianwa, P. C. and A. Egunyomi. 1983. Trace metal levels in some Nigerian mosses used as indicators of atmospheric pollution, *Environ. Pollut.* 5: 71-81.
- Pietrobon, F., P. Soccac, P. M. P. Belluno and F. Scalari. 1994. Radioactive contamination of mountain pastures [Veneto]. *Ambiente-Risorse-Salute* 13 (24): 50-54.
- Pilegaard, K. 1978. Air born metals and sulphur dioxide monitored by epiphytic lichens in an industrial area. *Environ. Pollut.* 17: 81-82.
- Rasmussen, L., K. Pilegaard and H. Gydesen. 1980. The applications of Cryptogams as monitoring organisms of metal air pollution in Denmark. *Bot. Tids.* 75: 93-99.
- Richardson, D. H. S. 1981. *The Biology of Mosses*. Blackwell, Oxford. 220 pp.
- Roberts, T. M. 1972. Plants as monitors of airborne metal pollution. *J. Environ. Plann. Pollut. Control* 1: 43-54.
- Rühling, Å. and G. Tyler. 1969. Ecology of heavy metals: A regional historical study. *Bot. Notiser* 112: 248- 259.
- Rühling, Å. and G. Tyler. 1970. Sorption and retention of heavy metals in the woodland moss *Hylocomium splendens* (Hedw.) Br. et Sch. *Oikos* 21: 92-97.
- Rühling, Å. and G. Tyler. 1971. Regional difference in the deposition of heavy metals over Scandinavia. *J. Appl. Ecol.* 8: 497-507.
- Rühling, Å. and G. Tyler. 1973. Heavy metal deposition in Scandinavia. *Water, Air & Soil Pollut.* 2: 445-455.
- Rühling, Å., L. Pilegaard, A. Makinen and E. Steinnes. 1987. Survey of atmospheric heavy metal deposition in the Nordic countries in 1985. Nordisk. Ministerrad, Copenhagen.

- Shacklette, H. T. 1965. Element content of bryophytes. U.S. Geol. Surv. Bull. 1198-D: 1-21.
- Shaw, A. J. 1987. Evolution of heavy metal tolerance in bryophytes-II. An ecological and experimental investigation of the copper moss *Scopelophila cataractae* (Pottiaceae). Am. J. Bot. 74: 813-821.
- Shaw, A. J. 1990. Metal tolerance in bryophytes. In: Shaw, A. J. (ed.). Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. CRC, Boca Raton, Florida, pp. 133-152.
- Shaw, A. J., J. Antonovics and L. E. Anderson. 1987. Interspecific and intraspecific of variation mosses intolerance to copper and zinc. Evolution 41: 1312-1325.
- Shaw, J., S. C. Beer and J. Lutz. 1989. Potential for the evolution of heavy metal tolerance in *Bryum argentium*. I. Variation within and among populations. The Bryologist 92 (1):73-80.
- Steinnes, E. 1993. Some aspects of biomonitoring of air pollutant using mosses as illustrated by the 1976 Norwegian survey. In: Markert, B. (ed.). Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment. VCH, Weinheim, pp. 381-394.
- Tuba, Z. and Z. Csintalan. 1993. The use of moss transplantation techniques for bioindication of heavy metal pollution. In: Markert, B. (ed.). Plants as Biomonitors. Indicators for heavy metals in the terrestrial environment. VCH, Weinheim, pp. 403-411.
- Tyler, G. 1990. Bryophytes and heavy-metals: A literature review. Bot. J. Linn. Soc. 104: 231-253.

Study of Mosses as Indicators of Atmospheric and Substrata Pollutions in the Northern Provinces of Iran

S. Shirzadian

Department of Botany, Plant Pests & Diseases Research Institute, Tehran 19395, Iran

Abstract:

Pollution of air, water and soil, caused mainly by increasing industrialization has become a matter of global concern, particularly in the agriculture and its related subjects. Pollutants which may be gaseous such as carbon monoxide, fluorides, hydrocarbons, hydrogen sulphide, nitrogen oxides, ozone and sulphur dioxide, also reduce photosynthesis and growth of plants and may eventually cause their death. Mosses (Bryophytes), have been used in monitoring heavy metal air, water and soil pollution. Aquatic Bryophytes proved to be useful indicators for water quality, particularly in systems poor in aquatic vascular plants, such as acidified waters. High accumulation of heavy metals (trace elements) in higher plants causing reduction in agricultural and farming production is not detectable easily, while in Mosses, due to their unique features such as absence of cuticle, presence of single-celled thick lamina and, therefore, their remarkable capacity of surface absorption, is more accurately obtainable. In the present study, a total of 30 samples including Mosses and their supporting substrata (soil), collected from different parts of Golestan, Mazandaran and Gilan which are three northern provinces of Iran, are considered for their chemical analyses. Meanwhile, these Moss samples are also carefully identified. The final results of toxic element (K and Na) and heavy metal (Zn, Cu, Mn, Fe, Pb, Co, As, Hg, Ni, Cr, Cd and V) absorptions by each specimen with respect to the environmental parameters is investigated. The results showed that, specimen Nos. 9, 13, 20, 27, 33, 52, 54 and 55 are to be considered as pollution indicators in the surveyed area (see graphs and tables in the Persian text).

باسمه تعالی
فرم ثبت انتشارات وزارت جهاد کشاورزی
در مرکز اطلاعات و مدارك علمي کشاورزي

عنوان: جمع آوری، شناسایی و تجزیه شیمیایی خزها و بررسی امکان استفاده از آنها در سنجش میزان آلودگی‌ها.

نگارنده: سعید شیرزادیان

مترجم: -

گردآورنده: -

ناظر: -

ویراستار: -

چاپ: -

محل نشر: تهران

نام ناشر: مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی

تاریخ نشر: سال ۱۳۸۳

تعداد صفحات: ۱۰۵ (با احتساب متن، شکل، جداول و نمودارها)

تیراژ: -

زبان متن: فارسی با خلاصه انگلیسی

موضوع:

یکی از ویژگی‌های خزها آن است که می‌توان از این گیاهان به عنوان شاخصی در سنجش آلودگی‌های زیست محیطی (زیست نشانگر) استفاده نمود. لذا هدف از انجام این پژوهش که برای نخستین بار در ایران انجام گردید، بررسی توانایی این گیاهان در تعیین میزان آلودگی‌ها در مناطق تحت بررسی و مقایسه آنها با یکدیگر بود. بدین منظور، ۳۰ نمونه خز از سه استان گلستان، مازندران و گیلان در سه مرحله مختلف و در هر مرحله ۱۰ نمونه خز به همراه بستر (خاک) هر یک جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها شناسایی و سپس جهت تعیین مقدار عناصر سنگین و سمی (۱۴ عنصر) مورد تجزیه شیمیایی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج این تحقیق به طور خلاصه نشان داد که مناطق مورد بررسی در استان گلستان نسبت به دو استان مازندران و گیلان از میزان سرب، آرسنیک و کادمیم کمتر و در مقابل از وانادیم و نیکل بیشتر و کرومیوم نسبتاً یکسان با استان مازندران و بیشتر از استان گیلان برخوردار بوده است. بنابراین، به طور کلی، در استان گلستان نسبت به استان‌های مازندران و گیلان، میزان آلودگی‌هایی که توسط این گیاهان مشخص شد کمتر مشاهده گردید. جذب جیوه در تمام مناطق سه استان مذکور ناچیز بود. مقایسه میانگین عناصر مختلف مورد نظر بین استان‌ها به کمک تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن انجام گردید.

چکیده جامع پروژه

الف - مقدمه و هدف

امروزه مسئله آلودگی محیط زیست نه تنها در کشور ما بلکه در کشورهای پیشرفته دنیا بویژه کشورهای صنعتی، از جمله مسایلی است که هنوز حل نشده و روز به روز مشکل تر و ابعاد پیچیده تری به خود می گیرد. پیشرفت صنایع و احداث کارخانه های جدید در مجاورت شهرها موجب آلودگی های هوا، آب، خاک و یا به عبارت دیگر، سبب آلودگی های زیست محیطی شده که با ازدیاد جمعیت اگر این روند ادامه یابد و کشورها برای خود چاره ای نیاندیشند، روزی خواهد رسید که کره زمین برای بشر غیر قابل سکونت گردد!

با توجه به مقدمه فوق و برای کمک به رفع این معضل، دانشمندان علوم طبیعی دریافتند که می توان از بریوفیت ها (خزه ها) به عنوان ابزار مناسبی در تشخیص آلودگی های هوا، آب و خاک استفاده نمود. استفاده از این نوع گیاهان در مقایسه با راهکارهای دیگر، بروز خطرات زیست محیطی را به صفر رسانده و از هزینه بسیار کمتری نیز برخوردار است. آلاینده های گازی و فلزی با توجه به ساختار و ویژگی های این گیاهان در داخل آنها تجمع یافته که پس از تجزیه قابل ارزیابی می باشند. خزه ها به دلیل نداشتن لایه محافظ کوتیکول در برگ ها، فلزات سنگین و نادر را از محیط اطراف (بخصوص از هوا) به آسانی جذب می نمایند. لذا از این ویژگی (surface absorption) می توان جهت مطالعه و محاسبه جذب مواد معدنی و در نتیجه سنجش آلودگی ها (به عنوان سنجنده بیولوژیک یا زیست نشانگر) استفاده نمود.

از آنجایی که در ایران تا به حال در این زمینه پژوهشی انجام نشده است، لذا هدف اصلی این پروژه پی بردن به موادی است که در اثر آلودگی های زیست محیطی جذب این گیاهان می شوند. بدین منظور، ۳۰ نمونه مختلف از خزه ها از سه استان گلستان، مازندران و گیلان طی یک برنامه زمان بندی شده (در سه مرحله مختلف و در هر مرحله ۱۰ نمونه خزه به همراه بستر یا خاک هر یک) جمع آوری گردید.

ب - سابقه تحقیق (داخل و خارج کشور)

تا به حال در ایران هیچگونه کار تحقیقاتی در مورد سنجش میزان آلودگی ها توسط خزه ها انجام نشده است، اما در خارج از کشور پژوهش های وسیعی در این ارتباط صورت گرفته که به موارد مهم آن ذیلاً اشاره می شود.

به دلیل توان بریوفیت ها در جذب فلزات سنگین که برخی از آنها از جمله سرب، جیوه، آرسنیک و غیره بسیار مہلک می باشند، می توان به تحقیقاتی که توسط Bell (1959) و James (1973) در این زمینه صورت گرفته است اشاره نمود. سپس مطالعات گسترده تری در

دهه‌های هفتاد و هشتاد روی این گیاهان در ارتباط با تعیین میزان فلزات سنگین و آلوده کننده هوا انجام گرفت

(Gilbert 1968, Rühling & Tyler 1969, 1970, 1971, 1973, Roberts 1972, Anderson 1974, Anderson *et al.* 1978, Goodman *et al.* 1974, Johnsen 1974, Pilegaard 1978).

گیاه شناسان دیگری مانند: Huckabee (1973), Czarnowska (1974), Czarnowska & Rejment-Grochowska (1974) و LeBlanc *et al.* (1974) مشاهده نمودند که بریوفیت‌ها نسبت به گیاهان پیشرفته از قابلیت بیشتری در جذب این گونه فلزات برخوردارند. در سالهای بعد نیز می‌توان به ادامه تحقیقات جالب توجهی که توسط Onianwa & Egunyomi (1983), Richardson (1981), Rasmussen *et al.* (1980), Empain (1985), Chopra & Kumra (1988), Shaw (1990), Kumar *et al.* (1989), Tuba & Csintalan (1993), Steinnes (1993) و Bargagli *et al.* (1995) صورت گرفت اشاره نمود. اخیراً ترکیبات شیمیایی ۱۳ گونه از خزه‌های تیره Mniaceae به تفصیل توسط Claude *et al.* (2000) به چاپ رسید.

ج- اهداف

- ۶- جمع‌آوری خزه‌های مورد نظر از مناطق تحت بررسی.
- ۷- شناسایی و تعیین نام گونه‌های خزه جمع‌آوری شده و قرار دادن آنها در هرباریوم "IRAN".
- ۸- تجزیه شیمیایی نمونه‌ها و تعیین مقدار عناصر سنگین و سمی هر کدام.
- ۹- بررسی امکان استفاده از نمونه‌های مطالعه شده به منظور سنجش میزان آلودگی‌ها.
- ۱۰- معرفی گونه‌های بررسی شده در ارتباط با اثبات وجود خواص مذکور در بند ۴ و انتقال اطلاعات به دست آمده به صورت ارایه سخنرانی و پوستر در سمینارها و چاپ مقالات در ژورنال‌های علمی معتبر.

د- روش تحقیق

نمونه برداری‌ها شامل خزه‌ها همراه با بستر هر کدام (خاک) از مناطق مختلف استان‌های گلستان، مازندران و گیلان انجام گردید. از هر استان جمعاً ۱۰ نمونه در نظر گرفته شد. نمونه‌های خزه پس از درج مشخصات لازم جهت شستشو با آب مقطر و انجام آزمایش‌های بعدی به آزمایشگاه و هرباریوم منتقل گردیدند. سپس به طور جداگانه روی صفحات روزنامه در حرارت آزمایشگاه خشک گردیدند. آماده‌سازی نمونه‌ها جهت تعیین مقدار عناصر سنگین موجود همراه با سدیم و پتاسیم با روش E. P. A. (1979) به شرح زیر انجام گردید:

ابتدا تمام ظروف شیشه‌ای مورد نیاز به مدت ۲۴ ساعت در اسید نیتریک ۲۰ درصد قرار داده شد و پس از شستشوی کامل با آب مقطر و خشک نمودن، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه

خزه و ۵۰۰ میلی گرم از هر نمونه خاک (بستر) را درون بشر ریخته و روی آن ۱۰ سی سی محلول اسید نیتریک و اسید پرکلریک به نسبت ۳:۱ اضافه گردید. سپس بشرهای محتوی اسید و خزه و اسید و خاک را روی هیتر آنقدر حرارت دادیم تا کاملاً خشک شدند. پس از آن ۱۰ سی سی اسید نیتریک به هر یک اضافه نموده و هر کدام را به طور جداگانه درون ظروف پلی اتیلن ریختیم. ظروف مذکور پس از درج کد مخصوص جهت تعیین مقدار عناصری که در گیاه و بستر مد نظر بودند شامل: Cr, Co, Pb, Cd, Fe, Mn, Ni, Hg, V, Cu, As, Zu, Na, K به آزمایشگاه پژوهشگاه صنعت نفت ارسال گردید که نتایج آن در بخش‌های بعدی گزارش آورده شده است. محاسبات آماری با نرم افزار SPSS و گراف‌ها با برنامه Excel و تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن صورت گرفت.

ه- یافته‌های تحقیق

تجزیه شیمیایی ۳۰ نمونه از خزه‌های جمع‌آوری و شناسایی شده همراه با بستر هر یک جهت سنجش میزان آلودگی‌ها از سه استان تحت بررسی به طور خلاصه نشان داد که مناطق مورد بررسی در استان گلستان نسبت به دو استان مازندران و گیلان از میزان سرب، آرسنیک و کادمیم کمتر و در مقابل از وانادیم و نیکل بیشتر و کرومیوم نسبتاً یکسان با استان مازندران و بیشتر از استان گیلان برخوردار بوده است. بنابراین، به طور کلی، در استان گلستان نسبت به استان‌های مازندران و گیلان، میزان آلودگی‌هایی که توسط این گیاهان مشخص شد کمتر مشاهده گردید (رجوع شود به جداول و نمودارهای ارائه شده در صفحات بعدی گزارش حاضر). جذب جیوه در تمام مناطق استان گلستان مانند دو استان دیگر بسیار ناچیز بود.

و- نتیجه‌گیری

جهت ارزیابی آلودگی‌ها توسط خزه‌ها، نمونه‌های شماره ۹ و ۱۳ از استان مازندران، نمونه‌های شماره ۲۰، ۲۷ و ۳۳ از استان گیلان و نمونه‌های شماره ۵۲، ۵۴ و ۵۵ از استان گلستان، شاخص‌های قابل توجهی در جذب عناصر سمی محسوب گردیدند (رجوع شود به جداول و نمودارهای ارائه شده در صفحات بعدی گزارش حاضر). از آنجا که نمونه‌های خاک مناطق تحت بررسی در هر سه استان به عنوان بستر رشد این گیاهان نیز جمع‌آوری و تجزیه شدند، نتیجه‌گیری شد که جذب عناصر توسط خزه‌ها عمدتاً به جای خاک از طریق هوا صورت گرفته است. مقایسه میانگین عناصر مختلف مورد نظر بین استان‌ها از طریق تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن در قسمت یافته‌ها، نتایج و تحلیل به طور مشروح ارائه و بحث شده است.

ن- پیشنهادها

۷- پس از معرفی و اثبات خزه‌هایی که در این گزارش در جذب عناصر سمی و مهلک موثر بوده‌اند، می‌توان آنها را با روشی موسوم به "Moss Bag Technique"

(Roberts 1972, Goodman *et al.* 1974) در محیط‌های مختلف قرار داد تا بتوان از آنها به عنوان شاخص‌های مناسبی (bioindicators) در جذب و اندازه‌گیری میزان آلودگی هوای منطقه مورد نظر بهره‌مند شد.

۸- از خزها می‌توان مقدار حضور فلزات سنگین موجود در آب رودخانه‌ها را نیز تخمین زد که از این طریق با شناسایی و معرفی گونه‌های مناسب، می‌توان آلودگی‌های آب را هم مشخص نمود.

۹- گازهای آلوده‌کننده‌ای چون SO_2 که پس از مخلوط شدن با آب به صورت باران‌های اسیدی محیط را آلوده می‌نمایند، توسط خزها قابل ارزیابی می‌باشند (Nash & Nash 1974) که نتایج این تحقیقات توسط مراجع ذیربط قابل بهره‌برداری می‌باشد.

۱۰- پیشنهاد می‌شود که انجام این گونه پروژه‌های تحقیقاتی - کاربردی، از حمایت و تداوم کامل برخوردار شوند. تخصیص اعتبارات کافی، زمان کافی برای انجام پژوهش و حذف مراحل پیچیده اداری که متأسفانه همگی در انجام پژوهش حاضر مشکلات عمده‌ای را برای مجری مسئول به وجود آورده بود، بایستی به طور قطع رفع و مورد توجه مسئولان مربوط قرار گیرد.

شرح محتوای پروژه

۱- مقدمه و هدف

آلودگی‌های زیست محیطی که امروزه گریبانگیر اکثر کشورها و از جمله کشور ما گردیده، معضل بزرگی است که هنوز لاینحل باقی مانده است. با افزایش جمعیت و ادامه این روند، بخصوص در کشورهای در حال توسعه، ناگزیر بایستی از تمام راهکارهای ممکن جهت مهار آن بهره‌گرفت. اغلب گازهایی که از کارخانه‌ها متصاعد می‌شود حاوی فلزات سمی و خطرناک بوده، مانع رشد گیاهان شده و روز به روز حیات جامعه بشری را به اشکال گوناگون مورد مخاطره قرار می‌دهد. این فلزات که اغلب در ستون چهارم و پنجم جدول تناوبی عناصر قرار داشته و جزو فلزات سنگین

محسوب می‌شوند، فلزاتی هستند که چگالی آنها از پنج گرم در هر سانتی‌متر مکعب بیشتر است. فلزاتی که به عنوان آلوده کننده اتمسفر قلمداد می‌شوند عبارتند از: آرسنیک، کادمیم، کرومیوم، کبالت، مس، آهن، منگنز، جیوه، نیکل، وانادیم و روی. از این میان، مس، آهن، منگنز و روی جهت رشد گیاهان ضروری بوده، درحالی که بقیه سمی محسوب می‌شوند. به طور کلی، میزان فلزات در اتمسفر غیر قابل تقلیل بوده و لذا پس از آزاد شدن در اتمسفر به عنوان بخشی از آن به طور پایدار باقی می‌مانند.

در دهه‌های اخیر، دانشمندان دریافته‌اند که یکی از کم‌خطرترین و شاید کم‌هزینه‌ترین راه‌های کنترل این گونه آلودگی‌ها، توسط بیوفیت‌ها (خزه‌ها و هپاتیک‌ها) امکان پذیر است. این گیاهان از نظر مرفولوژیکی ساده‌ترین گیاهان سبزی هستند که در خشکی زندگی می‌کنند و دارای قدرت تولید مثل بالایی بوده و از سوی دیگر، به دلیل کوچکی اندازه و ساختار تغذیه ساده‌شان، به راحتی در آزمایشگاه قابل تکثیر می‌باشند. همچنین برگ‌های آنها فاقد لایه کوتیکول است که نتجتاً می‌توانند فلزات سنگین و نادر را از محیط اطراف خود یعنی هوا، باران، آب و خاک به آسانی جذب نمایند. از این ویژگی (surface absorption) می‌توان از این گیاهان به عنوان ابزاری جهت مطالعه و محاسبه جذب مواد معدنی و در نتیجه سنجش آلودگی‌ها (سنجنده بیولوژیک یا زیست نشانگر) استفاده نمود.

بیوفیت‌ها به دلیل ساختار آناتومیک خاص و توانایی قابل توجه برای جذب آب و عناصر، نسبت به آلودگی‌ها حساسند. به دلیل ویژگی‌های مذکور، سالهاست که توسط دانشمندان به عنوان شاخص‌ها و سنجنده‌های زنده (bioindicators) و در عین حال در بررسی آلودگی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. در صورت افزایش غلظت آلوده کننده‌هایی نظیر گازهای SO_2 ، NO_2 و CO_2 و فلزات سنگین مانند Cu ، As ، Zn ، V ، Hg ، Ni ، Mn ، Fe ، Cd ، Pb ، Co ، Cr و غیره در محیط، مقدار کلروفیل، تنفس، فعالیت نیتروژن سازی و فتوسنتز در این گیاهان محدود و حتی در برخی موارد متوقف می‌گردد. این علائم نشان دهنده افزایش آلودگی در محیط است. همچنین گفته می‌شود که این گیاهان معرف شرایط محیطی خود هستند و با توجه به حساسیت آنها به عنوان ضریب خلوص اتمسفر می‌توانند مانند گل‌سنگ‌ها استفاده شوند. بنابراین، می‌توان در ارزیابی آلودگی‌های زیست محیطی در مناطقی که این گیاهان حضور دارند از آنان به عنوان سنجنده‌های بیولوژیک (زیست نشانگر) استفاده نمود.

هدف از انجام پژوهش حاضر ضمن تعیین میزان آلودگی‌ها در مناطق تحت بررسی و مقایسه آنها با یکدیگر، معرفی گونه‌هایی از خزه‌هاست که در جذب عناصر مورد نظر فعالیت می‌نمایند. بدین منظور، ۳۰ نمونه از بیوفیت‌ها (خزه) همراه با بستر (خاک) مربوط به هر یک از سه استان مازندران، گیلان و گلستان در سه مرحله زمان‌بندی شده جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت.

استفاده از بریوفیت‌ها (خزه‌ها و هپاتیک‌ها) به عنوان شاخصی در اندازه‌گیری عناصر سنگین و نادر و یا به طور کلی مواد آلوده‌کننده (سمی) که در هوا موجود می‌باشد، تا به حال توسط افراد کثیری در خارج از ایران مورد مطالعه قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به تحقیقاتی که توسط Bell (1959) و James (1973) انجام گرفته است اشاره نمود. در سالهای بعد، بررسی‌های بیشتری در این زمینه صورت گرفت که خود دلیلی است بر تاکید وجود این ویژگی که در بریوفیت‌ها موجود است (Gilbert 1968, Rühling & Tyler 1969, 1970, 1971, 1973, Anderson 1974, Anderson et al. 1978, Johnsen 1974, Pilegaard 1978).

دیگر گیاه‌شناسان از جمله: Czarnowska (1974), Huckabee (1973), Czarnowska & Rejment-Grochowska (1974), Leblanc (1974) و همکاران اثبات نمودند که بریوفیت‌ها نسبت به گیاهان پیشرفته از قابلیت بیشتری در جذب فلزات مورد اشاره برخوردارند. Goodman و Roberts و همکاران به ترتیب در سالهای ۱۹۷۲ و ۱۹۷۴ با روشی موسوم به "Moss Bag Technique" موفق شدند با قرار دادن و آویزان کردن کیسه‌هایی که محتوی برخی گونه‌های مورد نظر از خزه‌ها در محیطی که آلودگی هوا در آن موجود بود و به علاوه نگهداری همان گونه‌ها به عنوان کنترل (شاهد) در محل دیگری فاقد هر نوع آلودگی، میزان آلودگی هوای محل مورد نظر را تعیین نمایند. بدین منظور، پس از تجزیه شیمیایی خزه‌های دو محل، مقدار مواد معدنی و فلزی موجود پس از مقایسه آنها با یکدیگر مشخص گردید.

اینگونه مطالعات توسط محققان در کشورهای مختلف جهان به شرح ذیل ادامه یافت:

Rasmussen et al. (1980), Richardson (1981), Onianwa & Egunyomi (1983), Empain (1985), Onianwa (1987), Rühling et al. (1987), Chopra & Kumra (1988), Kumar et al. (1989), Shaw (1990), Shaw et al. (1987, 1989), Steinnes (1993), Tuba & Csintalan (1993), Pietrobon (1994), Bargagli et al. (1995), Claude et al. (2000).

از سوی دیگر، خزه‌ها مقاومت زیادی در مقابل تغییر pH (اسیدی و قلیایی بودن) خاک و

آب

از خود نشان می‌دهند. به عنوان مثال اسفاگونوم (*Sphagnum*) مقدار فراوانی جیوه، سرب و روی توسط آب جذب می‌کند. در این راستا Kelly و همکاران در سال ۱۹۸۷ از گیاهان مذکور جهت سنجش مقدار فلزات سنگین موجود در آب رودخانه‌ها استفاده کردند.

یکی از گازهای آلوده‌کننده گاز SO_2 می‌باشد. از این دیدگاه نیز حساسیت خزه‌ها با توجه به ویژگی‌هایی که دارند (فعال‌ترین گیاهان در طول مدت سال، عدم وجود کوتیکول در گامتوفورها و همواره مرطوب بودن سطح این گیاهان) حساسیت بسیار بالایی داشته، لذا این گاز قبل از جذب به طور مداوم در آب حل شده (مانند باران‌های اسیدی) تا زمانی که تعادل برقرار گردد. پس می‌توان نتیجه گرفت که خزه‌ها حساسترین گیاهان نسبت به این گاز بوده (Nash & Nash 1974) و قادرند در ژئوشیمی مانند ابزاری در سنجش مواد مورد استفاده قرار گیرند.

Richardson در سال ۱۹۸۱ در کتاب جالب خود در ارتباط با ارزیابی میزان آلودگی هوا توسط این گیاهان به مراجع و منابع مختلف اشاره نموده است. اخیراً Claude و همکاران در سال ۲۰۰۰

با تجزیه این گیاهان به نتایج جدیدتر و قابل توجهی دست یافتند.

با توجه به مطالب مذکور، مشخص می‌گردد که این گیاهان تا چه اندازه قادرند به عنوان ابزاری بیولوژیک در سنجش آلودگی‌ها مورد استفاده قرار گیرند. متأسفانه تا به حال در ایران هیچگونه کار تحقیقاتی در این خصوص انجام نگرفته است. لذا با اجرای این طرح سعی گردید تا ضمن آشنایی علاقمندان به این گیاهان، بتوان با ایجاد پایه‌ای، کاربرد آنها را در این زمینه در کشور معرفی و اثبات نمود.

۳- مطالعات نظری

جهت مطالعه و آزمایش بریوفیت‌ها در خصوص استفاده از آنها در سنجش میزان آلودگی‌ها، ابتدا نیاز به جمع‌آوری نمونه‌هایی از خزها بود. بدین منظور، طی ماموریت‌های متفاوت به سه استان در نظر گرفته شده (استان‌های گلستان، مازندران و گیلان)، از هر استان ۱۰ نمونه گیاه همراه با بستر هریک (جمعاً ۳۰ نمونه) جمع‌آوری گردید. نام گونه‌های شناسایی شده در جداول ۲ تا ۴ همراه با اطلاعات دیگر شامل نام عناصر مورد بررسی آورده شده است.

۴- روش تحقیق، فعالیت‌های علمی و آزمایشگاهی

نمونه‌های خزها همراه با بستر (خاک) رویش از مناطق مختلف سه استان مورد نظر شامل استان مازندران (جنگل‌های دو هزار و سه هزار، مسیرهای عباس آباد به سمت کلاردشت و تنکابن به جنت رودبار)، استان گیلان (مسیرهای سیاهکل به سمت دیلمان و فومن به ماسوله) و استان گلستان (جنگل‌های توسکاستان، شמושک، ناهار خوران و زیارت) طی انجام چندین ماموریت در تابستان سال ۱۳۷۸ جمع‌آوری گردیدند.

نمونه‌های جمع‌آوری شده را پس از خشک کردن در سایه و هوای آزاد به طور جداگانه در کیسه‌های نایلونی قرار داده و روی هر یک مشخصات صحرائی الصاق و بعد به آزمایشگاه جهت انجام مراحل بعدی منتقل گردید. در آزمایشگاه، هر یک از نمونه‌های خزها به طور جداگانه به دقت تمیز شد تا عاری از مواد اضافی مانند برگ و بذور گیاهان و غیره گردد. سپس بخشی از هر یک از نمونه گیاه را چندین بار با آب مقطر به کمک فشار پیست محتوی آب مقطر شستشو داده و بعد روی قطعات روزنامه در درجه حرارت آزمایشگاه مجدداً خشک گردیدند. بخش دیگر هر نمونه خزها جهت شناسایی و تعیین نام برای نگهداری در هرباریوم "IRAN" در نظر گرفته شد که این کار به کمک فلورهای معتبر انجام گردید. در مورد بستر (خاک) نیز بدین صورت عمل شد که خاک‌ها را ابتدا درون سینی‌های پلاستیکی پهن کرده و چند روز در حرارت اتاق خشک کرده و سپس طی مراحل

زیر آماده سازی نمونه‌ها (شامل گیاه و خاک) برای ارسال به آزمایشگاه پژوهشگاه صنعت نفت جهت تعیین میزان عناصر سنگین همراه با سدیم و پتاسیم صورت گرفت (شکل ۱).

تجزیه عناصر با روش E. P. A. (1979) انجام گردید، بدین ترتیب که ابتدا تمام ظروف شیشه‌ای (شامل بشرها، قیف‌ها، ارلن‌ها و غیره) مورد استفاده به مدت ۲۴ ساعت در اسید نیتریک ۲۰ درصد قرار داده شد. دلیل انجام این کار آن است که اگر ظروف مورد مصرف در اسید قرار گیرند، یون H^+ جذب نموده و هنگام آزمایش‌ها هیچیک از عناصر سنگین جذب دیواره ظروف نشده و تماماً در خود محلول حفظ خواهند شد. بشرهای شسته شده با اسید ابتدا با آب و بعد با آب مقطر آب کشی و خشک گردیدند. پس از اطمینان از خشک شدن کامل نمونه‌ها، ۲۰۰ میلی‌گرم ($0/2\text{gt}$) از هر نمونه خزه پودر شده و ۵۰۰ میلی‌گرم ($0/5\text{gt}$) از هر نمونه خاک را درون بشرهای کوچک ریخته و درون هر یک ۱۰ سی سی محلول اسید نیتریک و اسید پر کلریک به نسبت ۳:۱ اضافه گردید. نسبت ۳:۱ به این ترتیب بود که ۲۰۰ سی سی اسید نیتریک با ۶۶/۶ اسید پر کلریک در یک سیلندر مدرج (مزور) استریل (شستشو به روش مذکور) مخلوط گردید و بشرهای محتوی اسید- خزه و اسید- خاک روی هیتر آنقدر حرارت داده تا کاملاً خشک گردیدند. عمل خشک شدن زیر هود انجام گرفت تا فاقد ورود هرگونه آلودگی باشد. سپس روی هر یک ۱۰ سی سی اسید نیتریک اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت، محلول‌ها با قیف شیشه‌ای استریل به کمک کاغذ صافی فیلتر گردید. محلول‌های اسید- خزه و اسید- خاک را به طور جداگانه درون ظروف پلی‌اتیلن استریل جهت ارسال به آزمایشگاه پژوهشگاه صنعت نفت جهت تعیین مقدار عناصر سنگین همراه با سدیم و پتاسیم موجود در آنها ارسال گردید که نتایج نمونه‌های هر استان در جداول ۲ تا ۴ همراه با اطلاعات دیگر شامل نام مناطق بررسی شده و اسامی گونه‌های خزه مورد آزمایش در قسمت یافته‌ها و نتایج آورده شده است.

تعداد ۱۲ فلز سنگین به اسامی: Zu, Hg, Fe, Mn, Cr, Cu, Pb, Cd, Ni, Co, V, As به علاوه Na و K که اغلب برای رشد گیاهان و محیط زیست سمی و خطرناک محسوب می‌شوند، در نمونه‌های گیاه و خاک بررسی و استخراج گردید. ضمناً در ردیف اول هر جدول بلانک منظور گردیده است. بلانک حلالی است که برای نمونه‌ها به کار برده شده است. مقادیر حاصله از تجزیه محلول بلانک را می‌توان از مقادیر هر عنصر در هر نمونه کسر نمود، ولی در اینجا به دلیل ناچیز بودن این ارقام از آنها صرف‌نظر گردیده است.

۱۱- فعالیت‌های میدانی و آماری

مقایسه میانگین عناصر مختلف بین استان‌ها (مازندران، گیلان و گلستان) از طریق تجزیه واریانس و آزمون دانکن:

از نظر مقدار آرسنیک تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($\alpha < 0.05$) بین استان‌ها دیده می‌شود. بالاترین مقدار مربوط به استان گیلان می‌باشد (۲/۶۴۴ppm) که تفاوت معنی‌دار با میانگین‌های استان‌های مازندران و گلستان (به ترتیب ۰/۵۱۲۲ و ۰/۷۷۲) دارد ولی بین استان‌های مازندران و گلستان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($\alpha > 0.05$).

Cd

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار کادمیم در سطح کمتر از ۵ درصد ($\alpha < 0.05$) تفاوت معنی‌دار وجود دارد. استان گیلان با ۹/۲۵ppm تفاوت معنی‌داری را با استان‌های مازندران و گلستان نشان می‌دهد ولی بین استان‌های مازندران و گلستان (به ترتیب ۰/۲۴۵ و ۰/۵۵۵) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.05$).

Co

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار کبالت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($\alpha > 0.05$).

Cr

از نظر مقدار کرومیوم مقایسه میانگین سه استان نشان می‌دهد که آزمون در سطح معنی‌داری کمتر از ۵ درصد ($\alpha < 0.05$) معنی‌دار است. میانگین استان گلستان ۱۰/۷۲۵ ppm می‌باشد که تفاوت معنی‌دار با استان‌های مازندران و گیلان دارد ولی بین میانگین‌های استان‌های مازندران و گیلان (به ترتیب ۴/۸۲ و ۳/۲۰۳) تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

Cu

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار مس تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.05$).

Fe

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار آهن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.05$).

Hg

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار جیوه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($\alpha > 0.05$).

K

بین استان‌های مختلف از نظر مقدار پتاسیم در سطح کمتر از یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($\alpha < 0.01$). پتاسیم در استان گیلان ۴۶۶۰ ppm می‌باشد که از دو استان دیگر بیشتر بوده و تفاوت معنی‌داری با آنها دارد ولی استان‌های مازندران و گلستان (به ترتیب ۱۹۳۴ و ۱۹۴۶) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهند.

Mn

از نظر مقدار منگنز بین استان‌های مختلف تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($\alpha > 0.5$).

Na

از نظر مقدار سدیم بین هر سه استان با یکدیگر تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از یک درصد وجود دارد. استان گیلان با میانگین ۶۴۴ppm بیش از همه و سپس استان گلستان با ۴۸۸ppm در مقام دوم و استان مازندران با ۳۰۷ppm در مکان سوم قرار دارد.

Ni

از نظر مقدار نیکل استان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($\alpha > 0.5$).

Pb

از نظر مقدار سرب تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از یک درصد ($\alpha < 0.1$) وجود دارد. بالاترین میزان سرب مربوط به استان گیلان با ۳۵۷/۲۲ppm می‌باشد که با دو استان دیگر تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد. استان‌های مازندران و گلستان به ترتیب با میانگین‌های ۱۵/۷۶۵ و ۱۱/۹۶ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

V

از نظر مقدار وانادیم استان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($\alpha < 0.5$).

Zn

بین استان‌ها از نظر مقدار روی در سطح ۵ درصد ($\alpha < 0.5$) تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود. بالاترین مقدار مربوط به استان گیلان با ۴۲۹ppm و بعد از آن استان گلستان با ۱۱۹/۲ و در آخر استان مازندران با ۴۹/۱ppm قرار گرفته است.

۱۲- یافته‌ها، نتایج و تحلیل آنها

به منظور سنجش میزان آلودگی‌ها در سه استان تحت بررسی (استان‌های مازندران، گیلان و گلستان)، با توجه به جداول ۱ تا ۴ ارایه شده در بند ۵ (فعالیت‌های میدانی و آماری)، پس از جمع‌آوری و تجزیه شیمیایی ۳۰ نمونه خزه همراه با بستر (خاک) در هر یک از مناطق مذکور، مشخص شد که استان گلستان نسبت به دو استان دیگر یعنی مازندران و گیلان از میزان سرب، آرسنیک و کادمیم کمتر و در مقابل از وانادیم و نیکل بیشتر و کرومیوم نسبتاً یکسان با استان مجاور یعنی مازندران و بیشتر از استان گیلان برخوردار بود. لذا استان گلستان نسبت به دو استان دیگر

با توجه به نمونه‌ها و تاریخ نمونه‌برداری (جداول ۲ تا ۴) آلودگی کمتری را نشان می‌دهد. جذب

جیوه که یکی از عناصر خطرناک محسوب می‌شود در تمام مناطق این استان همانند دو استان دیگر ناپیچ بود. با مشخص شدن مقدار غلظت هر یک از عناصر مورد نظر پس از تجزیه هر یک از گونه‌ها می‌توان دریافت که منطقه تا چه اندازه از آلودگی برخوردار بوده است.

واریانس غلظت مواد در ۳۰ نمونه جمع‌آوری و مطالعه شده از سه استان تحت پوشش در مورد آهن، منگنز و پتاسیم از عناصر دیگر بیشتر بود (نمودارهای ۶۰-۱)، در صورتی که میزان عناصر مورد نظر در داخل هر یک از استان‌ها کاملاً نتایج متغیری را نشان داد (نمودارهای ۷۴-۶۱). گفتنی است که در مجموع، مقدار عناصر مورد نظر در خاک (بستر) در هر سه استان از مقدار آنها در خزه‌های بررسی شده بیشتر بوده است. نمونه‌های خاک مناطق تحت بررسی در تمام استان‌های مورد آزمایش به عنوان بستر رشد خزها نیز جمع‌آوری و سپس تجزیه گردیدند، اما نکته جالب توجه آن است که با این که ثابت شده است که جذب عناصر به وسیله این گیاهان عمدتاً به جای خاک از طریق هوا انجام می‌گیرد، ولی نتایج حاصله از تجزیه خاک نیز به نتایج به دست آمده از هر یک از نمونه‌های خز شباهت نسبتاً نزدیکی را نشان داد. در همین ارتباط، مشخص شد که مقدار عناصر جذب شده توسط هر یک از نمونه‌هایی که چه از روی خاک (به صورت خاکری) و چه از روی تنه درختان (به صورت اپیفیت) جمع‌آوری شده بود در میزان جذب عناصر تفاوتی نداشته است. این موضوع تایید می‌نماید که بریوفیت‌ها (خزه‌ها) عناصر را عمدتاً از طریق هوا جذب می‌نمایند و این مسئله به بستر آنها ارتباط مستقیم ندارد. نتایج به دست آمده با تحقیقات انجام شده توسط Onianwa (1987) مطابقت داشت. به عنوان مثال، در خصوص مقدار کبالت که حفظ آن در گیاهان بسیار اندک می‌باشد و همین‌طور کرومیوم در مقایسه با عناصر دیگر بسیار کمتر بود. این امر احتمالاً به دلیل افزایش غلظت یونی سدیم و روی می‌باشد. از طرف دیگر، نمونه‌های تحت بررسی مقدار بیشتری پتاسیم نسبت به سدیم جذب نمودند.

طبق نظر (Rühling & Tyler (1969, 1971) و Groet (1976)، خزه‌هایی که از ارتفاعات بیشتری جمع‌آوری می‌شوند، مقدار بیشتری عناصر جذب می‌نمایند که این ویژگی نیز می‌تواند در شاخص‌های اندازه‌گیری در آزمایشات انجام شده دخیل باشد. ذکر این نکته قابل توجه است که افزایش مقادیر برخی عناصر سمی هیچ‌گونه مسمومیت در خود گیاه به وجود نیاورده است، در صورتی که از دیاد فلزاتی چون مس، روی و سرب معمولاً سمی گزارش شده است (Shaw 1987, 1990; Shaw et al. 1987). اگرچه با مراجعه به جداول ۲ تا ۴ افت در جذب مقدار مس در خزها مشهود گردید، ولی از سوی دیگر فاکتورهای نسبتاً بالایی برای فلزاتی چون نیکل، روی، منگنز و آهن از بستر (خاک) مشاهده گردید. علیرغم گرایش این گیاهان به حفظ سطح تراکم در فلزات مذکور، ضرورتاً آنها نمی‌توانند تنها شاخص‌هایی باشند که بتوان در اندازه‌گیری آلودگی‌ها استفاده نمود. خزها به هر حال نسبت به بسیاری از نشانگرهای دیگر به عنوان شاخص‌های طبیعی و به کمک روش‌های ساده‌تر قابل استفاده می‌باشند. جداسازی و یا تصفیه مواد از خاک‌های سطحی نسبت به انجام این گونه کارها با دیگر روش‌ها مشکل‌تر، پرهزینه‌تر و یا با دقت کمتر همراه است. از سوی دیگر، طبق نظر Shacklette (1965) که آزمایشاتی روی ۴۳ عنصر یافت شده در

بریوفیت‌ها انجام داد، تعداد ۱۶ عنصر را برای رشد آنها ضروری تشخیص داد. ناگفته نماند که میزان مواد موجود در آب باران و رطوبت هوا نیز در جذب این عناصر بسیار موثر بوده است (Anderson *et al.* 1978).

با توجه به کل نمودارهای ترسیم شده (۱-۷۶) و تجزیه و تحلیل هر یک مشخص گردید که نمونه‌های شماره ۹ [*Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) Kop.] و ۱۳ [*Brachythecium acuminatum* (Hedw.) Aust.] در استان مازندران، نمونه‌های شماره ۲۰ [*Rhynchostegium riparioides* (Hedw.) Card.]، ۲۷ [*Thuidium abietinum* (Hedw.) B.S.G.] و ۳۳ [*T. recognitum* (Hedw.) Lindb.] در استان گیلان و نمونه‌های شماره ۵۲ [*Homalothecium megaptilum* (Sull.) Robins.] و ۵۴ [*Brachythecium salebrosum* (Web. & Mohr) B.S.G.] و ۵۵ [*Leskeella* sp.] در استان گلستان، شاخص‌های قابل توجهی در جذب عناصر سمی محسوب گردیدند (جداول ۲ تا ۴). با مقایسه برخی گونه‌های شناسایی شده در یک یا دو استان به طور مشترک مشاهده و جمع‌آوری و سپس مورد آزمایش قرار گرفتند نیز نتایج قابل توجهی به شرح زیر به دست آمد. به عنوان مثال: *Rhynchostegium riparioides* (Hedw.) Card. و *Brachythecium acuminatum* (Hedw.) Aust. که از استان مازندران (به ترتیب نمونه‌های شماره ۱۳ و ۱۴) جمع‌آوری شده بودند، همان طور که قبلاً نیز اشاره گردید عناصر سمی را به خود جذب نموده، در حالی که همین گونه‌ها از استان گیلان

(به ترتیب نمونه‌های شماره ۱۸ و ۲۰) مقاومت بیشتری را نسبت به عناصر سمی از خود نشان دادند و یا به عبارت دیگر عناصر کمتری جذب نموده‌اند. به همین ترتیب *Homalothecium megaptilum* (Sull.) Robins. جمع‌آوری شده از استان‌های مازندران (نمونه شماره ۲۳) و گلستان (نمونه شماره ۵۲) نتایج مشابهی را نشان دادند. *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) Kop. جمع‌آوری شده از استان مازندران (نمونه شماره ۲۱) نیز نسبت به جذب کلیه عناصر از خود مقاومت چشمگیری بروز داده است. بنابراین، آیا گونه‌های مذکور قادرند همیشه در مناطق مختلف به طور یکسان و یکنواخت عمل نمایند، پرسشی است که فقط با تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌توان به آن پاسخ دقیق ارایه نمود. در این مقطع صرفاً می‌توان نتیجه گرفت که از این نظر بریوفیت‌ها دو دسته‌اند: دسته اول، آنهایی که به آلودگی‌ها واکنش نشان داده و بسیار حساس عمل می‌کنند و دسته دوم، آنهایی که همواره از خود مقاومت نشان می‌دهند. Shaw و همکارانش در سال ۱۹۸۷ در تحقیقاتشان متوجه شدند که گونه‌ای از خزها به نام *Physcomitrium pyriforme* (Hedw.) Brid. در پنج جمعیت متفاوت همواره توانسته بود در همه جا نسبت به فلز روی از خود مقاومت نشان دهد. در این راستا از دما، ارتفاع، میزان رطوبت یا بارندگی و غیره می‌توان به عنوان عوامل اثرگذار نام برد. مرفولوژی و شکل ظاهری خود گیاه نیز در این ارتباط از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در اینجا لازم به ذکر است که در تحقیقات انجام شده توسط نگارنده (مجری طرح) مسمومیت در هیچیک از گونه‌های تحت بررسی، حتی زمانی که مقدار برخی فلزات مانند روی از حد نسبی بالایی برخوردار بود ملاحظه نگردید. لذا مشاهده این آزمایشات بیانگر این حقیقت است که خزها نقش مهمی را در چرخه غذایی و اکوسیستم ایفاء می‌نمایند و قادرند به عنوان ابزار بیولوژیک (زیست نشانگر) جهت تعیین مقدار عناصر سنگین از محیط اطراف خود مورد استفاده قرار گیرند.

Folkesson (1981) بیان می‌دارد که نمونه خزهایی را که از مجاورت کارخانه‌ها در کشور فنلاند جمع‌آوری و تجزیه نموده است، از میزان مس و کرومیوم بالایی برخوردار بوده است، در حالی که این موضوع در میزان جذب کلسیم و منگنز صادق نبوده است. از آنجایی که در تحقیق حاضر عوامل اثرگذار بر آلودگی مناطق تحت بررسی، هر یک به طور جداگانه مورد نظر نبوده، لذا پیشنهاد می‌شود که با حمایت از اجرای چنین پروژه‌هایی بتوان در آینده، حضور دیگر عوامل و تاثیر منفی آنها را بر محیط زیست به کمک این گیاهان مورد بررسی قرار داد.

مقایسه میانگین عناصر مورد نظر بین هر یک از استان‌های مازندران، گیلان و گلستان به کمک تجزیه واریانس به روش آزمون دانکن (جدول ۱) صورت گرفت.