

## تغییرات فلورسانس کلروفیل و رشد نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica*) و افاقیا (*Robinia pseudoacacia*) تحت تنش کادمیوم

- ◀ عاطفه دژبان؛ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ◀ انوشیروان شیروانی؛ استادیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ◀ پدرام عطارد\*؛ دانشیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
- ◀ مجتبی دلشاد؛ دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۲۱)

### چکیده

تنش فلزات سنگین فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هدف تحقیق حاضر تأثیر کادمیوم بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل  $F_m$ ،  $F_o$ ،  $F_v/F_m$  و رشد نهال‌های یک‌ساله داغداغان و افاقیا است. دو گونه ده روز، دو بار با غلظت‌های کادمیوم (۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) محلول‌پاشی شدند. فلورسانس کلروفیل به‌صورت یک روز در میان و در پایان فصل رشد قطر و ارتفاع نهال‌ها سنجیده شد. نتایج نشان داد افزایش غلظت باعث کاهش معنی‌دار  $F_v/F_m$  داغداغان و افاقیا شد و طی زمان  $F_v/F_m$  هر دو گونه افزایش معنی‌دار یافت.  $F_o$  هر دو گونه در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد و  $F_m$  در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافت. قطر داغداغان در هیچ تیماری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و قطر افاقیا در تیمارهای ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کاهش معنی‌داری یافت. ارتفاع داغداغان در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش و ارتفاع افاقیا در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش معنی‌دار یافتند. نتایج نشان داد پاسخ‌های فیزیولوژیک داغداغان و افاقیا به تنش کادمیوم ضعیف و نسبتاً مشابه می‌باشند. لازم است در مطالعات آینده سایر ابزارهای فیزیولوژیک برای نشان دادن تنش فلزات سنگین در گیاهان و انتخاب آن‌ها برای کاشت در مناطق آلوده شهری مدنظر قرار بگیرند.

**کلمات کلیدی:** رشد، روش محلول‌پاشی، فتوسیستم II، فلورسانس کلروفیل.

## مقدمه

فتوسنتز در ذرت و سویا ( Bazzaz *et al.*, 1974; Hampp *et al.*, 1974) می‌شود. در سال‌های اخیر استفاده از روش فلورسانس کلروفیل به‌طور گسترده در بسیاری از مطالعات اکوفیزیولوژی بکار گرفته شده است. اثرات تنش‌های بلندمدت و کوتاه‌مدت و آسیب به اجزای فتوسنتز کننده را می‌توان از طریق فلورسانس کلروفیل تشخیص داد و به محض اینکه عامل تنش‌زا از روی گیاه برداشته شود، فلورسانس کلروفیل به حالت اولیه باز می‌گردد (Lichtenthaler, 1988). امروزه دستگاه‌های فلورمتر PAM<sup>1</sup> با تنوع فراوان برای سنجش اثرات بالقوه آلاینده‌ها بر روی گیاهان با استفاده از پارامتر  $F_v/F_m = (F_m' - F_o')/F_m'$  در دسترس قرار دارند (Jones *et al.*, 1999; Lewis *et al.*, 2001; Frankart *et al.*, 2003; Nielson *et al.*, 2003a). پارامتر  $F_v/F_m$  در برگ‌های سالم اکثر گونه‌های گیاهی مطالعه شده و نزدیک به ۰/۸۳ است، کم بودن این مقدار نشان‌دهنده این است که بخشی از مراکز واکنش فتوسیستم II آسیب دیده‌اند و پدیده‌ای به نام Photoinhibition اتفاق افتاده است (Bjorkman & Demmig, 1987). فلورسانس کلروفیل روشی سریع، غیر مخرب، کمی و بدون آسیب به اجزا ساختمان سلول گیاهی است (Mallick & Mohn, 2003). فلورسانس کلروفیل گونه *Halophila ovalis* که تحت تأثیر تنش سرب قرار گرفته بود نشان داد که سرب اثر سمی محدودی را بر روی این گونه داشته است (Ralph & Burchet, 1998). آلاینده‌های هوا از قبیل فلزات سنگین بر روی کمپلکس جذب‌کننده نور، فرگشت اکسیژن و سیتوکروم ساختمان کلروپلاست برگ تأثیر می‌گذارند و بازده فتوسنتز کل را کاهش می‌دهند (Prasad & Strzalka, 1999). هدف از تحقیق حاضر تعیین تحمل فیزیولوژیک داغداغان و افاقیا در مقابل افزایش غلظت کادمیوم و نیز تأثیر این

فعالیت‌های شهری از جمله ترافیک حاصل از وسایط نقلیه ذرات گردوغبار حاوی فلزات سنگین از جمله کادمیوم را تولید می‌کنند، رسوب ذرات گردوغبار حاوی فلزات سنگین بر روی برگ گیاهان و خاک ممکن است فعالیت فیزیولوژیک گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد و مانع فعالیت سیستم‌های آنزیمی و فرایندهای متابولیک گیاه گردند (Kramer & Kozlowski, 1979; Kabata-Pendias & Pendias, 1986). فتوسنتز به کادمیوم حساس بوده و کادمیوم کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO<sub>2</sub> را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chaffei *et al.*, 2003). Sezgin و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که غلظت کادمیوم در گردوغبارهای خیابان دو برابر غلظت آن در خاک نرمال می‌باشد. امروزه گونه‌های گیاهی داغداغان (*Robinia*) و افاقیا (*Celtis caucasica*) و *pseudoacacia* به‌طور وسیع در اکثر خیابان‌های شهر-های بزرگ و پارک‌ها به‌عنوان گونه‌های زینتی استفاده می‌شوند (Rahmanov, 2009; Gani ghorban, 2012). افاقیا از گونه‌هایی است که مقدار زیادی از فلزات سنگین را در اندام‌هایش انباشته می‌سازد (Sawidis *et al.*, 2001) و احتیاجات اکولوژیکی محدودی دارد، بنابراین در محیط‌هایی با شرایط اکولوژیک سخت به‌سرعت سازگار می‌شود (Rahmanov, 2009). Gulriz و همکاران در سال ۲۰۰۶ با کشف غلظت‌های بالای سرب در برگ‌های افاقیا در مقایسه با افرا، صنوبر، عرعر، چنار و زبان‌گنجشک، افاقیا را به‌عنوان گونه مقاوم برای کاشت در محیط‌های شهری معرفی کردند. کاهش رشد تحت تنش کادمیوم در خردل (*Brassica juncea* L.) ممکن است به‌طور مستقیم نتیجه محدود شدن فتوسنتز باشد (Iqbal *et al.*, 2010). در گونه‌های گیاهی حساس، مثل لوبیا تجمع کادمیوم در بخش‌های مختلف گیاه، منجر به کاهش رشد (Weigel & Jager, 1980) و محدود شدن

۳- حداکثر فلورسانس کلروفیل بعد از تابش نور به برگ

۴- حداقل فلورسانس کلروفیل بعد از عادت دادن برگ به تاریکی

۱- Pulse Amplitude Modulated

۲- بازده فتوشیمی فتوسیستم II

عنصر بر فتوسنتز و میزان رشد نهال‌های این دو گونه می‌باشد.

و پنج روز بعد از آن در تاریخ ۹۰/۳/۱۷ دومین محلول‌پاشی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط رشد

تحقیق حاضر بر روی نهال‌های یک‌ساله دو گونه درختی داغداغان و اقاچیا، واقع در مرکز تحقیقات البرز (مجتمع تحقیقاتی البرز)، در حدود هفت کیلومتری مرکز شهر کرج، در طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۵۰ درجه و ۵۴ دقیقه شرقی و ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی در خردادماه سال ۱۳۹۰ انجام شد. ارتفاع از سطح دریای مرکز تحقیقات ۱۳۰۰ متر، میانگین بارندگی سالیانه ۲۳۰ میلی‌متر و میانگین دمای هوا ۱۳/۷ درجه سانتی‌گراد است که در طبقه آب و هوایی نیمه‌خشک قرار دارد (Ghasemi and Modirrahmati, 2007). نود عدد نهال مشابه از هر گونه درختی انتخاب و به‌صورت تصادفی در پنج گروه نه‌تایی جهت اعمال تیمارهای کادمیوم با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مرتب شدند. هر تیمار شامل نه‌گیاه منفرد بوده است.

تهیه محلول حاوی کادمیوم و تیمارهای آزمایشی به‌منظور تهیه محلول حاوی کادمیوم با غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، نمک کلراید کادمیوم ( $Cd.Cl_2.H_2O$ ) (Pankovic et al., 2000; ) (Baumann et al., 2009; Tukaj et al., 2007) برحسب غلظت موردنیاز، در آب مقطر دو بار تقطیر حل و غلظت‌های فوق به دست آمد. سپس ده میلی‌لیتر از محلول حاوی فلز کادمیوم (تیمار شاهد آب مقطر دو بار تقطیر) بر روی هر نهال پاشیده شد. عمل محلول‌پاشی بر روی نهال‌ها، دو بار با فاصله‌ی پنج روز انجام شد، به این صورت که اولین محلول‌پاشی در تاریخ ۹۰/۳/۱۲ اجرا شد

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

بعد از اینکه نهال‌ها با استفاده از غلظت‌های مختلف کادمیوم تیمار شدند، برگ‌های گیاهان با استفاده از کلیپس به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفتند (شکل ۱). فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورسانس متر PAM-2500 (Walz, Germany)، در طول ده روز بعد از اولین محلول‌پاشی به‌صورت یک روز در میان مورد سنجش قرار گرفت. به جهت بیشتر بودن میزان فتوسنتز در محدوده زمانی ۱۱ صبح تا ۱۴ بعد از ظهر در اغلب گیاهان (Mohammed & Noland, 1997)، اندازه‌گیری‌ها در این فاصله زمانی انجام شد.

روش فلورسانس کلروفیل از روش‌های غیر مخربی است که امروزه برای سنجش انواع مختلف تنش در گیاهان در بسیاری از مطالعات استفاده می‌شود (Mohammed et al., 1995). پارامترهایی از فلورسانس کلروفیل که مورد سنجش قرار گرفتند عبارت بودند از  $F_v/F_m$ ، حداقل فلورسانس کلروفیل بعد از عادت دادن برگ به تاریکی ( $F_o$ ) و حداکثر فلورسانس کلروفیل بعد از تابش نور به برگ ( $F_m$ ). مرور منابع نشان می‌دهند که این پارامترها، شاخص‌های خوبی برای اندازه‌گیری تنش و تحمل به تنش در گیاهان هستند. به‌طور مثال در بافت‌های سالم اکثر گونه‌های گیاهی میزان  $F_v/F_m$  تقریباً برابر ۰/۸۳ است (Bjorkman & Demmig, 1987) و این مقدار در حضور انواع تنش‌ها کاهش می‌یابد؛ اما اگر محل‌هایی غیر از مراکز واکنش PSII، تحت تأثیر قرار بگیرد ممکن است دیرتر از سایر پارامترها عکس‌العمل نشان دهد (Adams et al., 1990).



شکل ۱- نحوه اتصال کلیپس به برگ و اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از فیبر نوری دستگاه فلورسانس متر PAM 2500

### نتایج

پارامترهای فلورسانس کلروفیل نتایج مربوط به تجزیه واریانس داده‌های فلورسانس کلروفیل در جدول (۱) آورده شده است. نتایج نشان داد که میزان  $F_o$  و  $F_m$  در بین داغداغان و اقاچیا اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهند، درحالی‌که از لحاظ فاکتور  $F_v/F_m$  بین دو گونه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود و طبق نتایج مقایسه میانگین میزان  $F_v/F_m$  داغداغان (۰/۷۳۸) بیشتر از اقاچیا (۰/۷۳۱) بوده است.  $F_o$  در غلظت‌های مختلف کادمیوم نیز اختلاف معنی‌داری ندارد، درحالی‌که  $F_m$  و  $F_v/F_m$  اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد را نشان می‌دهد. در طول زمان اندازه‌گیری هر سه پارامتر در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند. از نظر بررسی اثر متقابل گونه‌های داغداغان و اقاچیا در غلظت‌های مختلف کادمیوم در سطح یک درصد برای  $F_o$  و پنج درصد برای  $F_m$  معنی‌دار است درحالی‌که برای فاکتور  $F_v/F_m$  معنی‌دار نیست.

### اندازه‌گیری میزان رشد

پس از سپری شدن دوره تیمار، میزان رشد گونه‌ها (ارتفاع و قطر یقه) در پایان فصل رشد (شهریورماه ۱۳۹۰)، با استفاده از خط‌کش و کولیس اندازه‌گیری شدند.

### آنالیز داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به ازای هر تیمار انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 و با استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها در اثرات ساده و اثرات متقابل با استفاده از آزمون چند دامنه-ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد در محیط SAS با هم مورد مقایسه قرار گرفتند و نمودارها با استفاده از برنامه Excel ترسیم شدند.

جدول ۱- تجزیه واریانس پارامترهای فلورسانس کلروفیل در داغداغان و افاقیا تحت تأثیر فلز کادمیوم

میانگین مربعات پارامترهای فلورسانس کلروفیل			درجه آزادی	منابع تغییرات
$F_v/F_m$	$F_m$	$F_o$		
۰/۰۱۴*	۰/۱۵۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۶ <sup>ns</sup>	۱	نوع گونه
۰/۰۲۹**	۳/۵۲۱**	۰/۰۱۵ <sup>ns</sup>	۴	غلظت
۰/۰۲۰**	۹۱/۸۸۰**	۵/۲۳۹**	۴	زمان (روز)
۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۸۲۲**	۰/۰۷۶*	۴	گونه × غلظت
۰/۰۰۲	۰/۱۷۵	۰/۰۲۲	-	خطا
۷/۰۶۹	۱۱/۳۱۲	۱۵/۷۶۲	-	درصد ضریب تغییرات (CV)

\*\* معنی‌دار در سطح اطمینان یک درصد، \* معنی‌دار در سطح اطمینان پنج درصد و ns عدم اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.

شاهد معنی‌دار بوده است. همچنین مقدار  $F_m$  داغداغان در تمام غلظت‌های کادمیوم نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافت. میزان  $F_v/F_m$  این گونه نیز با افزایش غلظت کادمیوم کاهش معنی‌داری یافته است. در گونه افاقیا نیز برای هر سه پارامتر  $F_o$ ،  $F_m$  و  $F_v/F_m$  تقریباً نتایج مشابه گونه داغداغان مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین پارامترهای  $F_m$ ،  $F_o$  و  $F_v/F_m$  بین غلظت‌های مختلف کادمیوم در دو گونه داغداغان و افاقیا در جدول (۲) آمده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، مقدار  $F_o$  در داغداغان با افزایش غلظت کادمیوم افزایش یافته است که البته این افزایش تنها در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به

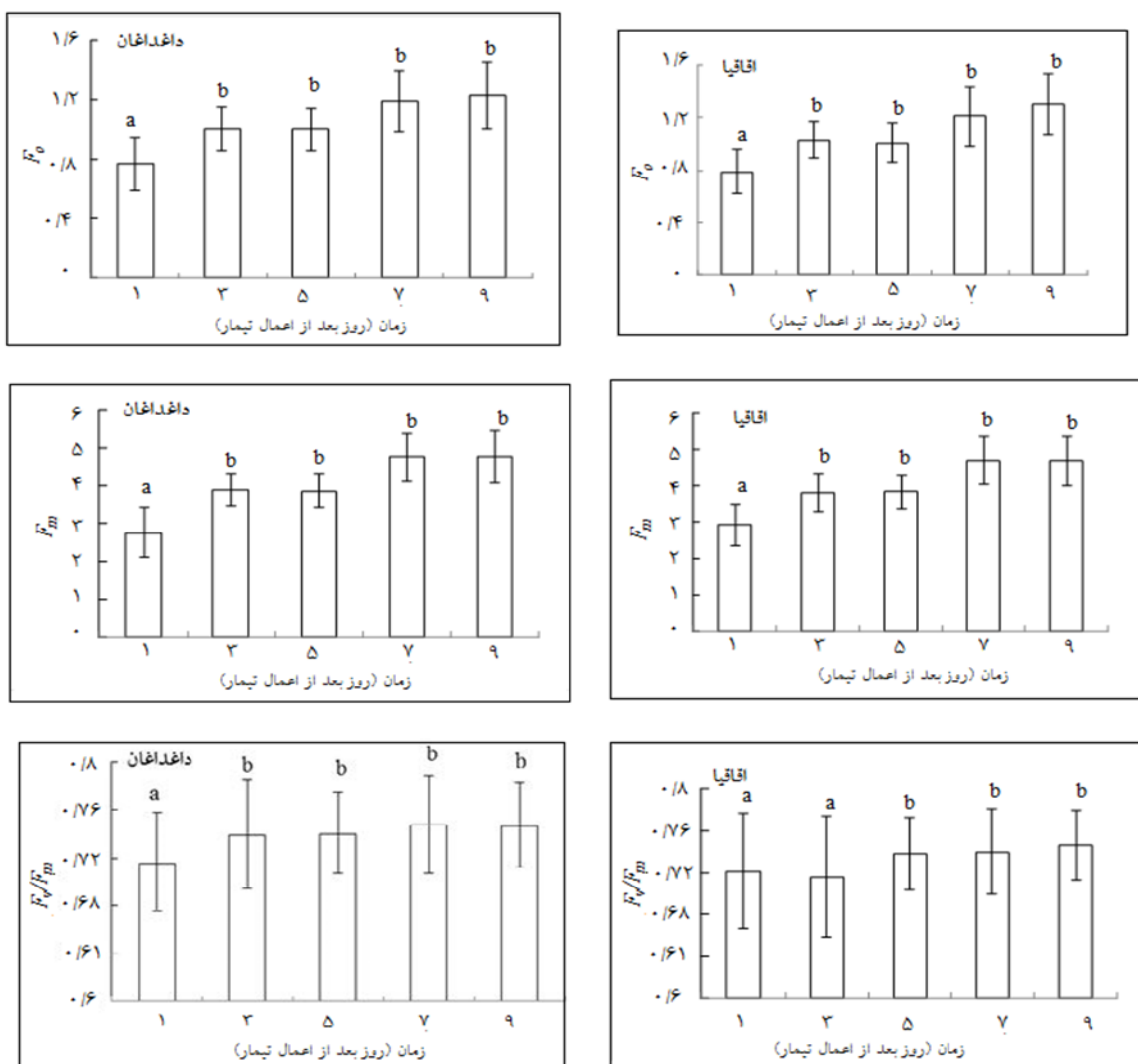
جدول ۲- مقایسه میانگین پارامترهای حداقل فلورسانس کلروفیل ( $F_o$ )، حداکثر فلورسانس کلروفیل ( $F_m$ ) و بازده فتوشیمی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) در داغداغان و افاقیا تحت تأثیر فلز کادمیوم

گونه	پارامتر	غلظت‌های مختلف کادمیوم (میلی‌گرم بر لیتر)			
		۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰
					صفر (شاهد)
داغداغان	$F_o$	۰/۹۱۹±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۰/۹۵۷±۰/۲۱ <sup>ab</sup>	۰/۹۷۴±۰/۲۴ <sup>ab</sup>	۰/۹۸۰±۰/۲۲ <sup>ab</sup>
	$F_m$	۳/۹۵۹±۰/۸۳ <sup>a</sup>	۳/۷۳۴±۱/۰۱ <sup>b</sup>	۳/۷۰۰±۰/۸۱ <sup>b</sup>	۳/۶۳۰±۰/۸۹ <sup>b</sup>
	$F_v/F_m$	۰/۷۶۵±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۷۲۴±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۷۲۲±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۷۲۱±۰/۱۱ <sup>b</sup>
اقاقیا	$F_o$	۰/۹۷۶±۰/۲۳ <sup>a</sup>	۰/۹۸۳±۰/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۹۶۱±۰/۲۲ <sup>a</sup>	۱/۰۳۲±۰/۲۵ <sup>a</sup>
	$F_m$	۳/۹۹۶±۰/۸۱ <sup>a</sup>	۳/۵۹۵±۱/۰۲ <sup>b</sup>	۳/۶۳۶±۱/۰۰ <sup>b</sup>	۳/۵۴۹±۰/۹۰ <sup>b</sup>
	$F_v/F_m$	۰/۷۴۷±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۷۲۹±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۷۲۱±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۷۰۳±۰/۰۵ <sup>b</sup>

حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن است.

همچنین  $F_m$  در تمام روزها با اختلاف معنی‌داری از روز اول در داغداغان و افاقیا افزایش یافته است (شکل ۲)، میزان  $F_v/F_m$  در گونه داغداغان در تمام روزها نسبت به روز اول افزایش معنی‌دار یافته است در حالی‌که در گونه افاقیا این افزایش در روزهای پنجم، هفتم و نهم نسبت به روز اول معنی‌دار بوده است (شکل ۲).

شکل (۲) میانگین میزان تغییرات  $F_o$ ،  $F_m$  و  $F_v/F_m$  در طول مدت اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل بر اساس گروه بندی آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد را در داغداغان و افاقیا نشان می‌دهد. میزان  $F_o$  در هر دو گونه با فاصله گرفتن از اولین روز بعد از اعمال تیمار افزایش معنی‌داری نسبت به روز اول یافته است (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین میزان تغییرات  $F_o$ ،  $F_m$  و  $F_v/F_m$  در طول دوره ده روزه اندازه‌گیری بعد از اعمال تیمار آلابنده کادمیوم در داغداغان و افاقیا

(حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن است).

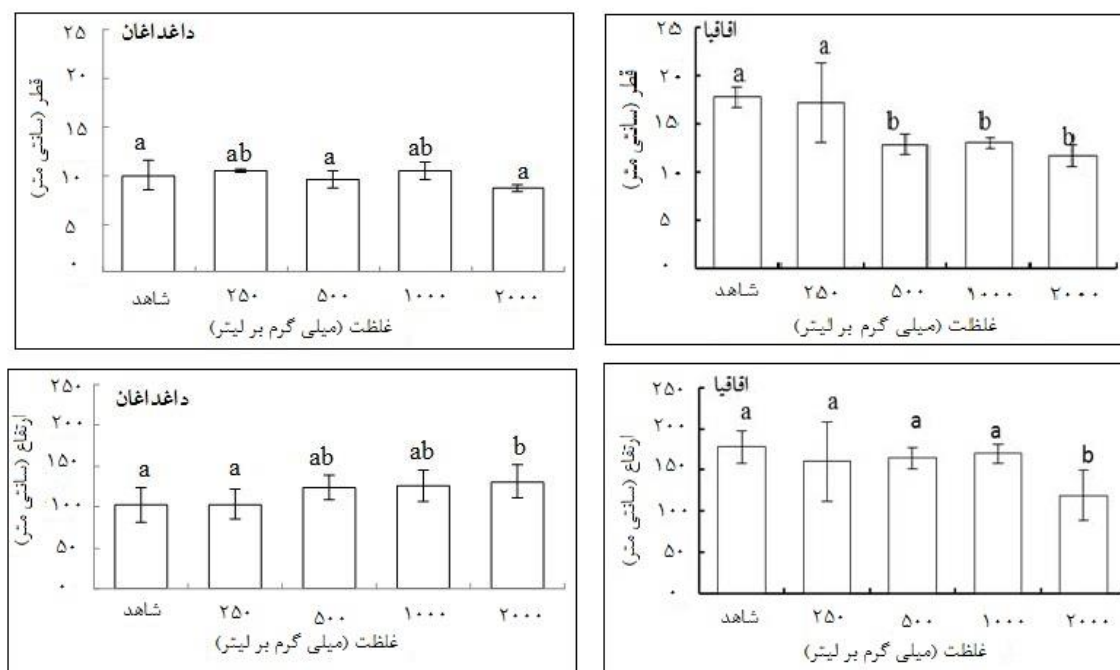
گونه‌های اقاچیا و داغداغان در غلظت‌های مختلف آلاینده در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود. شکل (۳) میزان تأثیرگذاری غلظت‌های مختلف کادمیوم را بر روی قطر و ارتفاع دو گونه داغداغان و اقاچیا نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، قطر داغداغان در غلظت‌های مختلف کادمیوم تفاوت معنی‌داری با هم ندارند، درحالی‌که قطر اقاچیا در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافته است و همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در داغداغان تحت تأثیر غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آلاینده، ارتفاع افزایش یافته است که نسبت به شاهد و تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر معنی‌دار بوده است، درحالی‌که در اقاچیا تحت تأثیر غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ارتفاع گونه کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد یافته است.

پارامترهای رشد نتایج مربوط به تجزیه واریانس داده‌های رشد (قطر و ارتفاع) در جدول (۳) آورده شده است. با توجه به جدول (۳)، میزان قطر در بین دو گونه اقاچیا و داغداغان اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد را نشان می‌دهد و نتایج مقایسه میانگین قطر داغداغان را ۹/۵۹ سانتی‌متر و قطر اقاچیا را ۱۴/۴۶ سانتی‌متر نشان داد. در بین غلظت‌های مختلف آلاینده نیز این صفت در سطح پنج درصد معنی‌دار شده است. از نظر بررسی اثر متقابل گونه‌های اقاچیا و داغداغان در غلظت‌های مختلف آلاینده نیز در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود. ارتفاع دو گونه اقاچیا و داغداغان اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد را نشان می‌دهد، طبق نتایج مقایسه میانگین ارتفاع داغداغان ۱۱۳/۳۳ سانتی‌متر و ارتفاع اقاچیا ۱۶۱/۹۳ سانتی‌متر شد. همچنین بین غلظت‌های مختلف آلاینده این صفت معنی‌دار نشده است. از نظر بررسی اثر متقابل

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس پارامترهای رشد در داغداغان و اقاچیا تحت تأثیر فلز کادمیوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات مورد بررسی
گونه	۱	قطر ۱۷۷/۵۸۴** ارتفاع ۱۷۷/۱۴/۷**
غلظت	۴	۱۱/۷۷۳*
گونه × غلظت	۴	۷/۴۵۶*
خطا	-	۲/۶۸
درصد ضریب تغییرات	-	۱۳/۶۲۱

\*\* معنی‌دار در سطح اطمینان یک درصد، \* معنی‌دار در سطح اطمینان پنج درصد، ns عدم اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.



شکل ۳- مقایسه میانگین قطر و ارتفاع داغداغان و افاقیا در غلظت‌های مختلف کادمیوم (حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد با آزمون دانکن است).

2000). این فرآیند را می‌توان این‌طور تشریح کرد که وقتی فتوسیستم II نور را جذب می‌کند و الکترون برانگیخته می‌شود، اولین پذیرنده الکترون ( $Q_A$ ) یک الکترون می‌گیرد و به دومین پذیرنده الکترون ( $Q_B$ ) می‌دهد. در این زمان مراکز واکنش به‌طور لحظه‌ای بسته می‌شوند که این بسته شدن باعث کاهش کلی فرآیندهای فتوسیمیایی می‌شود و برعکس بازده فلورسانس افزایش می‌یابد.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده،  $F_m$  و  $F_o$  در طول زمان قرارگیری در معرض آلاننده در هر دو گونه افزایش یافته‌اند (شکل ۲). با افزایش غلظت آلاننده،  $F_o$  در هر دو گونه افزایش یافت که در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است و  $F_m$  در تمام غلظت‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافته است (جدول ۲). افزایش  $F_o$  در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم (جدول ۲) را می‌توان به دلیل اثر بر روی مرکز واکنش فتوسیستم II

### بحث و نتیجه‌گیری

پارامترهای فلورسانس کلروفیل

تغییرات فلورسانس کلروفیل که عملکرد فتوسیستم II را نشان می‌دهد بر روی فتوسنتز تأثیر می‌گذارد.  $F_o$  تشعشعی از کلروفیل‌های برانگیخته شده در آنتن فتوسیستم II است که با انتقال انرژی برانگیختگی به مرکز واکنش فتوسیستم II رقابت می‌کند و قبل از اینکه انرژی برانگیختگی به مرکز واکنش برسد، جایگزین آن می‌شود (Mallick & Mohn, 2003). تشعشع  $F_m$  وضعیت فتوسیستم II، زمانی که همه مولکول‌های  $Q_A$  در مراکز واکنش فتوسیستم II در حالت احیاء قرار دارند را نشان می‌دهد (Schreiber *et al.*, 1993). در واقع این افزایش  $F_m$  نتیجه احیاء شدن پذیرنده‌های الکترون در مسیر فتوسنتز فتوسیستم II است (Maxwell & Johnson, )



در مطالعه حاضر، میزان  $F_v/F_m$  که در واقع پارامتر نهایی تعیین سلامت فتوسیستم II در طول زمان است، از روز پنجم تا روز نهم نسبت به روز اول در هر دو گونه افزایش معنی‌دار یافته است. این نتیجه را می‌توان این‌طور تفسیر کرد که بعد از گذشت چند روز از اولین روز قرارگیری در معرض آلاینده، گیاه شروع به افزایش فعالیت‌های حیاتی و بهبود وضعیت خود کرده است که نهایتاً منجر به افزایش بازده فتوشیمی فتوسیستم II یا  $F_v/F_m$  شده است.

در بررسی تفاوت بین دو گونه از لحاظ پارامترهای فلورسانس کلروفیل تفاوتی دیده نشد، تنها در پارامتر  $F_v/F_m$  بین داغداغان و افاقیا اختلاف دیده شد، به طوری که  $F_v/F_m$  در افاقیا، به اندازه ۰/۹۴ درصد کمتر از داغداغان شد.

#### پارامترهای رشد

کادمیوم اثر منفی بر روی رشد و فتوسنتز گیاهان دارد (Mobin & Khan, 2007; Khan et al., 2006). کاهش رشد تحت تنش کادمیوم ممکن است به‌طور مستقیم نتیجه محدود شدن فتوسنتز باشد (Iqbal et al., 2010). در گونه‌های گیاهی حساس، تجمع کادمیوم در بخش‌های مختلف گیاه، منجر به کاهش رشد (Weigel & Jager, 1980) و محدود شدن فتوسنتز (Bazzaz et al., 1974; Hampp et al., 1974) می‌شود. در مطالعات بسیاری کاهش رشد ریشه و ساقه در *Pisum sativum* L. تحت تأثیر غلظت‌های بالای کادمیوم گزارش شده است، از جمله در مطالعه Hattab و Dridi (۲۰۰۹)، کاهش طول ریشه و ساقه تحت تأثیر غلظت‌های ۱/۴ و ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم گزارش شده است. در مطالعه حاضر نیز قطر هر دو گونه داغداغان و افاقیا در غلظت‌های بالای کادمیوم کاهش یافت. اگرچه این کاهش در داغداغان معنی‌دار نبوده است ولی در افاقیا در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد که با مطالعه Hattab و

یا کاهش در انتقال انرژی از آنتن به مرکز واکنش نسبت داد (Ralph & Burchett, 1998). همچنین به نظر می‌رسد که کاهش در  $F_m$  نشان‌دهنده تغییر در ساختار خارجی غشای تیلاکوئید است که فرآیندهای انتقال الکترون را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yasemin et al., 2008). پارامتر  $F_v/F_m$  شاخص خوبی از بازده فتوسنتز در گیاهان است که می‌تواند عملکرد اجزای فتوسنتز کننده و توانایی گیاهان را در تحمل به تنش‌های محیطی نشان دهد (Maxwell & Johnson, 2000). در مطالعه حاضر، مقدار  $F_v/F_m$  در شاهد و سایر غلظت‌های آلاینده در هر دو گونه داغداغان و افاقیا از حد بهینه ( $F_v/F_m=0/83$ ) کمتر بوده است.  $F_v/F_m$  همانند  $F_o$  و  $F_m$ ، با افزایش زمان و فاصله گرفتن از زمان محلول‌پاشی، در هر دو گونه افزایش یافته است (شکل ۲). همچنین در غلظت‌های مختلف کادمیوم نسبت به شاهد در هر دو گونه کاهش نشان داده است (جدول ۲) و این کاهش در غلظت‌های مختلف کادمیوم نسبت به شاهد معنی‌دار بوده است. در شرایط نرمال و طبیعی،  $Q_A$  با انتقال الکترون به نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADP) و سپس به  $CO_2$  از طریق  $Q_B$ ، در حالت اکسایش قرار دارد، در نتیجه  $F_v/F_m$  نسبتاً زیاد است. اگر اکسیداسیون مجدد  $Q_A$  با کاهش یا ایجاد مانعی در مسیر انتقال الکترون محدود شود، مقدار  $F_v/F_m$  کاهش می‌یابد (Mallick & Mohn, 2003).  $F_o$  و  $F_m$  در هر دو گونه داغداغان و افاقیا وقتی در معرض غلظت‌های کادمیوم قرار گرفتند باعث کاهش  $F_v/F_m$  شده‌اند. در مطالعه‌ای افزایش معنی‌دار  $F_o$  در غلظت‌های بالای کادمیوم، کاهش معنی‌دار  $F_m$  و  $F_v/F_m$  را در دو رقم ذرت تحت تأثیر غلظت‌های ۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ کادمیوم نشان می‌دهد (Yasemin, 2008) که با نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه مطابقت دارد. همچنین در مطالعه دیگری گزارش کردند که  $F_v/F_m$  در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم، در نهال‌های بلوط همیشه‌سبز (*Quercus ilex* L.) کاهش پیدا کرد (Domínguez et al., 2008).

می‌رسد در شرایط این تحقیق هر دو رفتارهای فیزیولوژیک نسبتاً مشابهی به کادمیوم نشان دادند. با توجه به واکنش‌های ضعیفی که این دو گونه به تنش کادمیوم نشان دادند و کادمیوم باعث مختل شدن کامل فعالیت فیزیولوژیک و مرگ نهال‌ها نشد، قابلیت تحمل داغداغان و افاقیا را به این تنش نشان می‌دهد. با این وجود لازم است که سایر خصوصیات فیزیولوژیک گیاهان در پاسخ به تنش فلزات سنگین در مطالعات آینده و در انتخاب گونه‌های درختی برای برنامه‌های جنگل‌کاری در مناطق شهری و صنعتی در نظر گرفته شوند.

Dridi (۲۰۰۹) مشابه است. از لحاظ بررسی پارامتر ارتفاع در گونه داغداغان، این صفت تحت تأثیر غلظت‌های بالای کادمیوم افزایش یافته که این افزایش در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر معنی‌دار بوده است (شکل ۳) که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی به آن توجه شود و اما در گونه افاقیا بالعکس در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ارتفاع آن کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد و سایر غلظت‌ها یافته است (شکل ۳).

با مقایسه رفتار فیزیولوژیک دو گونه زینتی داغداغان و افاقیا در شرایط تنش کادمیوم در تحقیق حاضر، به نظر

## منابع

1. Gani ghorban, M., 2012. Using of endemic species in creating of parks with emphasis on their application. The first national conference of Iran botany garden. Research Institute of forests and rangelands.
2. Ghasemi, R., Modirrahmati, A., 2007. Final report of research plan of populous maternal stock collection generation. Research Institute of Alborz, Karaj.
3. Adams, W.W., Demmig-Adams, B., Winter, K. and Schreiber, U., 1990. The ratio of variable to maximum chlorophyll fluorescence from photosystem II, measured in leaves at ambient temperature and at 77 K, as an indicator of the photon yield of photosynthesis. *Journal of Planta*, 180: 166-174.
4. Baumann, H.A., Morrison, L. and Stengel, D.B., 2009. Metal accumulation and toxicity measured by PAM Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1063-1075.
5. Bazzaz, F.A., Rolfe, G.L. and Windle, P., 1974. Differing sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination. *Environment Quality*, 3: 156-158.
6. Björkman, O. and Demmig, B., 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170: 489-504.
7. Chaffei, C., Gouia, H. and Ghorbel, M.H., 2003. Nitrogen metabolism in tomato plants under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*, 26:1617-1634.
8. Domínguez, M.T., Madrid, F., Maranon, T. and Murillo, M. J., 2008. Cadmium availability in soil and retention in oak roots: Potential for phytostabilization. *Chemosphere*, 76: 480-486.
9. Frankart, C., Eullaffroy, P. and Vernet, G., 2003. Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor*. *Environmental and Experimental Botany*, 49: 159-168.
10. Gülriz, B., Doganay, T., Hakan, O. and Süreyya, G., 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. *Environmental Pollution*, 143: 545-54.
11. Hampp, R., Beulich, K. and Ziegler, H., 1974. Effects of zinc and cadmium on photosynthetic CO<sub>2</sub>-fixation and Hill activity of isolated spinach chloroplasts. *Physiology*, 109: 336-344.
12. Hattab, S. and Dridi, B., 2009. Photosynthesis and growth responses of pea *Pisum sativum* L. under heavy metals stress. *Environmental Science*, 21: 1552-1556.
13. Iqbal, N. and Khan, N.A., 2010. Variation in growth, photosynthesis functions and yield of five mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars under high cadmium stress. *Plant Stress*. (in press)
14. Jones, R.J., Kildea, T. and Hoegh-Guldberg, O., 1999. PAM chlorophyll fluorometry: a new in situ technique for stress assessment in Scleractinian corals, used to examine the effect of cyanide from cyanide fishing. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 864-874.
15. Kabata-Pendias, A. and Pendias, H., 1986. Trace Elements in Soils and Plants. Florida: CRC Press Inc, Boca Raton.
16. Khan, N.A., Samiullah, Singh, S. and Nazar, R., 2006. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193: 435-444.
17. Kramer, P.J. and Kozlowski, T.T., 1979. Physiology of Woody Plants. Orlando: Academic Press.
18. Lewis, S., Donkin, M.E. and Depledge, M.H., 2001. Hsp 70 expression in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stress. *Aquatic Botany*, 51: 277-291.

19. Lichtenthaler, H.K. and Rinderle, U., 1988. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress condition in plants. *CRC Crit. Rev. Annals Chemistry*, 19: 529–585.
20. Mallick, N., and Mohn, F.H., 2003. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 64–69.
21. Maxwell, K. and Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Experimental Botany*, 51: 659–668.
22. Mobin, M. and Khan, N.A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164: 601-610.
23. Mohammed, G.H., Noland, T.L., and Wagner, R.G., 1997. Physiological perturbation in jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) in the presence of competing herbaceous vegetation. *Forest Ecology and Management*, 103: 77-85.
24. Mohammed, G.H., Tejada, P.Z. and Miller, J.R., 1955. Applications of Chlorophyll Fluorescence in Forestry and Ecophysiology. Chapter 3, 35 p.
25. Nielson, H.D., Brownlee, C., Coelho, S.M. and Brown, M.T., 2003. Inter population difference in inherited copper tolerance involve photosynthetic adaptation and exclusion mechanisms in *Fucus serratus*. *New Phytologist*, 160: 157-165.
26. Pankovica, N., Plesniciari, M., Maksimovica A., Petrovica N., Sakaci Z. and Kastori, R., 2000. Effects of Nitrogen Nutrition on Photosynthesis in Cd-treated Sunflower Plants. *Annals Botany*, 86: 841–847.
27. Prasad, M.N.V. and Strzalka, K., 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. In: M.N.V. Prasad and J. Hagemeyer (ed): *Heavy Metal Stress in Plants*. Heidelberg: Springer, 117-138 p.
28. Rahmonov, O., 2009. The chemical composition of plant litter of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) and its ecological role in sandy ecosystems. *Acta Ecologica Sinica*, 29: 237–243.
29. Ralph, P.J. and Burchett, M.D., 1998. Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. *Environmental Pollution*, 103: 91-101.
30. Sawidis, T., Chettri, M.K., Papaioannou, A., Zachariadis, A. and Stratis, J., 2001. A study of metal distribution from lignite fuels using tree as biological monitors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48: 27–35.
31. Sezgin, N., Ozcan, H.K., Demir, G., Nemlioglu, S. and Bayat, C., 2003. Determination of heavy metal concentration in street dusts in Istanbul E-5 highway. *Environmental International*, 29: 979-985.
32. Schreiber, U., Bilger, U. and Neubauer., 1994. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecological Studies*, 100: 49-70.
33. Tukaj, Z., Matusiak-Mikulin, K., Lewandowska, J. and Szurkowski, J., 2003. Changes in the pigment patterns and the photosynthetic activity during a light-induced cell cycle of the green alga *Scenedesmus armatus*. *Plant Physiology and Biochimy*, 41: 337–344.
34. Weigel, H.J. and Jager, H.J., 1980. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in bean plants. *Plant Physiology*, 65: 480-482.
35. Yasemin, E., Deniz, T. and Beycan, A., 2008. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *Plant Physiology*, 165: 600-611.

## Response of chlorophyll fluorescence and growth of *Celtis caucasica* and *Robinia pseudoacacia* seedlings to the cadmium stress

- **A. Dezhban**; M.Sc. student, Dept. of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
- **A. Shirvany**; Assistant Professor, Dept. of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
- **P. Attarod\***; Associate Professor, Dept. of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
- **M. Delshad**; Associate Professor, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: 02- Feb- 2014 Accepted: 11- Jun- 2014)

### Abstract

The aim of the present study was to determine the effects of cadmium on chlorophyll fluorescence parameters, i.e.,  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ ,  $F_0$  and  $F_m$  as well as the growth of one-year-old seedlings of *Celtis caucasica* and *Robinia pseudoacacia*. The seedlings were sprayed by saline solution Cd during 10 days, 2 times, with different concentrations of Cd (0, 250, 500, 1000 and 2000 mg/litre). Chlorophyll fluorescence was measured every other day. Diameter and height were measured at the end of growing season. The results indicated that  $F_v/F_m$  of the both species decreased significantly with increasing of Cd concentrations and significant increase during 10 days by exposure to Cd concentrations was observed.  $F_0$  of the both species increased significantly in 2000 mg/liter,  $F_m$  decreased significantly in all treatments. Diameter of *Celtis* seedlings were not affected by the concentrations of 500, 1000 and 2000 mg/liter. Diameter of *Robinia* decreased significantly. The height of *Celtis* increased and the height of *Robinia* decreased significantly in 2000 mg/liter. Results showed fairly similar physiological responses to the cadmium stress by both species and both reacted to the high concentration of Cd. Other physiological characteristics should be considered in future studies while selecting of tree species for afforestation projects in urban polluted areas.

**Keywords:** Growth, spray method, photosystem II, chlorophyll fluorescence.