

اثر تنش کادمیوم بر فلورسانس کلروفیل، محتوای رنگدانه‌های کلروفیلی و پرولین برگ نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* L.) و اقاچیا (*Robinia pseudoacacia* L.)

عاطفه دژبان^۱، انوشیروان شیروانی^۱، پدرام عطارد^{۱*}، مجتبی دلشاد^۲ و محمد متینی‌زاده^۳

^۱ کرج، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی، گروه جنگل‌داری و اقتصاد جنگل

^۲ کرج، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، گروه علوم باغبانی

^۳ تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۴

چکیده

کادمیوم که بوسیله فعالیت‌های شهری، صنعتی و کشاورزی تولید می‌شود در گیاهان تنش ایجاد می‌نماید و فعالیت فیزیولوژیک گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این تحقیق تأثیر کادمیوم بر فلورسانس کلروفیل (F_m و F_o ، F_v/F_m)، محتوای رنگدانه‌های کلروفیل (a و b) و پرولین نهال‌های داغداغان و اقاچیا بصورت محلول پاشی کادمیوم بر روی برگ‌ها مشابه ریزش‌های جوی حاوی گرد و غبار و فلزات سنگین بررسی شد. نهال‌ها دو بار در فواصل پنج روزه با غلظت‌های کادمیوم (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) تیمار شدند. فلورسانس کلروفیل بعد از اولین محلول پاشی ده روز بصورت یک روز در میان اندازه‌گیری شد. در پایان ده روز نمونه برداری از برگ نهال‌ها برای اندازه‌گیری کلروفیل و پرولین انجام شد. نتایج نشان داد که فلورسانس کلروفیل داغداغان و اقاچیا در غلظت‌های بالای کادمیوم (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به میزان کمی تحت تأثیر قرار گرفت و F_v/F_m هر دو گونه کاهش یافت. کلروفیل a در اقاچیا در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم افزایش یافت و در داغداغان تفاوت معنی‌داری دیده نشد. محتوای کلروفیل b تحت تأثیر کادمیوم در هیچ یک از گونه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. پرولین داغداغان در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم افزایش یافت و در اقاچیا تغییری دیده نشد. این نتایج نشان می‌دهد که کادمیوم، فتوسنتز این دو گونه را به میزان کمی تحت تأثیر قرار داد، به طوری که فتوسیستم II و رنگدانه‌های کلروفیل آسیب جدی ندیدند. بنابراین پیشنهاد می‌شود 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.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، فلورسانس کلروفیل، داغداغان، اقاچیا

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۶۳۲۲۴۹۳۱۲، پست الکترونیکی: attarod@ut.ac.ir

مقدمه

رسوب ذرات گرد و غبار 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 (۲۷ و ۲۵). کادمیوم برای گیاهان سمی بوده و با تشکیل کمپلکس‌های پیچیده با پروتئین‌ها در بسیاری اعمال یاخته‌ای دخالت

امروزه گونه‌های گیاهی داغداغان (*Celtis caucasica*) و اقاچیا (*Robinia pseudoacacia*) به طور وسیع در بیشتر خیابان‌های شهرهای بزرگ و پارک‌ها به عنوان گونه‌های زینتی استفاده می‌شوند (۱ و ۴۰). فعالیت‌های عمده شهری از جمله ترافیک حاصل از وسایل نقلیه ذرات گرد و غبار حاوی فلزات سنگین از جمله کادمیوم را تولید می‌کنند،

و بدون آسیب به اجزا ساختمان سلول گیاهیست (۳۰). 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 (۴۱). آلاینده‌های هوا از قبیل فلزات سنگین بر روی کمپلکس جذب کننده نور، فرگشت اکسیژن (oxygen evolution complex) و ساختمان سیتوکروم کلروپلاست برگ تأثیر می‌گذارند و بازده فتوسنتز کل را کاهش می‌دهند (۳۸). پروپیلین یک آمینو اسید بوده و در ساختار پروتئین وجود دارد. تجمع این آمینو اسید برای اولین بار در تعدادی از گونه‌های گیاهی که در شرایط تنش‌زا رشد کرده بودند، مشاهده شد (۸ و ۲۱). اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ که شامل کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل می‌باشد نیز برای ارزیابی اثرات تنش آلاینده‌های هوا و فلزات سنگین بر گیاهان استفاده می‌شود (۲۲). *Dinakar* و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۸ (۱۶) بیان کردند که میزان پروپیلین در بافت‌های برگ و ریشه نهال‌های بادام زمینی *Arachis hypogaea* که در معرض غلظت‌های مختلف کادمیوم (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکرومول بر لیتر) قرار داشتند افزایش یافت و بالاترین غلظت کادمیوم (۱۰۰ میکرومول بر لیتر) باعث کاهش ۹۱ درصدی کلروفیل کل شد. میزان کلروفیل برگ گونه‌های شب‌خسب (*Albizia lebeck*) و شیشه شور (*Callistemon citrinus*) که در معرض آلاینده‌های هوا که کادمیوم نیز جزئی از آنها بود، افزایش یافت (۴۵).

هدف از تحقیق حاضر تعیین چگونگی تحمل فیزیولوژیک داغداغان و اقاچیا در مقابل افزایش غلظت عنصر سمی کادمیوم و نیز تأثیر این عنصر بر برخی از صفات فیزیولوژیک این دو گونه می‌باشد.

مواد و روشها

مواد گیاهی و تیمارهای آزمایشی: تحقیق حاضر بر روی نهال‌های یکساله دو گونه درختی داغداغان و اقاچیا، واقع در مرکز تحقیقات البرز (مجتمع تحقیقاتی البرز)، در حدود

کرده و تغییرات ژنتیکی و بیوشیمیایی را در گیاه ایجاد می‌نماید (۳۲). فتوسنتز به کادمیوم حساس بوده و کادمیوم کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO_2 را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۴). *Sezgin* و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۴۶) بیان کردند که غلظت کادمیوم در گرد و غبارهای خیابان دو برابر غلظت آن در خاک نرمال می‌باشد. اقاچیا از گونه‌هایی است که مقدار زیادی از فلزات سنگین را در برگ‌هایش انباشته می‌سازد (۴۳)، و احتیاجات اکولوژیکی محدودی دارد، برای مثال در محیط‌های بدون پوشش خاک مناسب به خوبی مستقر می‌شود، بنابراین در محیط‌هایی با شرایط اکولوژیک سخت به سرعت سازگار می‌شود (۴۰). *Gulriz* و همکاران در سال ۲۰۰۶ (۱۹) با کشف غلظت‌های بالای سرب در برگ‌های اقاچیا در مقایسه با افرا، صنوبر، عرعر، چنار و زبان‌گنجشک، اقاچیا را به عنوان گونه مقاوم برای کاشت در محیط‌های شهری معرفی کردند. در سال‌های اخیر استفاده از روش فلورسانس کلروفیل به طور گسترده در بسیاری از مطالعات اکوفیزیولوژی بکار گرفته شده است. اثرات تنش‌های بلند مدت و کوتاه مدت و آسیب به اجزای فتوسنتزکننده 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 (۲۹). امروزه دستگاه‌های فلورمتر PAM (Pulse Amplitude Modulated) با تنوع فراوان برای سنجش اثرات بالقوه آلاینده‌ها بر روی گیاهان با استفاده از پارامتر $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (حداکثر فلورسانس کلروفیل بعد از تابش نور به برگ) $-F_0$ (حداقل فلورسانس کلروفیل بعد از عادت دادن برگ به تاریکی) $/F_m$ (بازده فتوشیمی فتوسیستم II) در دسترس هستند (۲۰، ۲۳، ۲۸ و ۳۵). پارامتر F_v/F_m در برگ‌های سالم بیشتر 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 مهارسازی نوری (Photoinhibition) اتفاق افتاده است (۱۳). فلورسانس کلروفیل روشی سریع، غیرمخرب، کمی

گرفتند عبارت بودند از F_o ، F_v/F_m و F_m . مرور منابع نشان می‌دهند که این پارامترها، شاخص‌های خوبی برای اندازه‌گیری تنش و تحمل به تنش در گیاهان هستند. به طور مثال در بافت‌های سالم بیشتر گونه‌های گیاهی میزان F_v/F_m تقریباً برابر $0/83$ است (۱۳) 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 (۵). روش فلورسانس کلروفیل از روش‌های غیرمخرب است که امروزه برای سنجش انواع مختلف تنش در گیاهان در بسیاری از مطالعات استفاده می‌شود (۳۴).

اندازه‌گیری کلروفیل و پرولین برگ: نمونه برداری برای اندازه‌گیری کلروفیل از برگ‌ها ده روز پس از اعمال تیمار فلز سنگین کادمیوم انجام شد. کلروفیل a و b طبق روش Arnon (1949) (۶) اندازه‌گیری و محاسبه گردید. میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (CAIHONG 722) (UV/Spectrophotometer) خوانده شد. میزان کلروفیل a و b با استفاده از فرمول‌های ۱ و ۲ محاسبه شدند (۶):

(۱)

$$\text{کلروفیل } a \text{ (mg/gr)} = [(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})]$$

(۲)

$$\text{کلروفیل } b \text{ (mg/gr)} = [(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})]$$

در فرمول‌های ۱ و ۲، A_{663} و A_{645} به ترتیب عبارتند از: مقدار جذب خوانده شده در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر.

نمونه‌برداری به منظور سنجش پرولین برگ از برگ‌های کاملاً رشد یافته، سالم و بدون لکه‌های نکروزه، ده روز پس از اولین محلول‌پاشی کادمیوم انجام شد. سپس نمونه‌های برگ به فریزر -80°C درجه سلسیوس منتقل شدند. برای اندازه‌گیری پرولین برگ، از روش Bates (1973) (۱۰) استفاده شد. میزان جذب پرولین با استفاده از دستگاه

هفت کیلومتری مرکز شهر کرج، در طول و عرض جغرافیایی به ترتیب 50° درجه و 54° دقیقه شرقی و 35° درجه و 48° دقیقه شمالی در خرداد ماه سال ۱۳۹۰ انجام شد. ارتفاع از سطح دریای مرکز تحقیقات ۱۳۰۰ متر، میانگین بارندگی سالیانه ۲۳۰ میلی‌متر، و میانگین درجه حرارت $13/7^\circ\text{C}$ درجه سلسیوس است که در طبقه آب و هوایی نیمه خشک قرار دارد (۲). نود عدد نهال مشابه از هر گونه درختی انتخاب و به صورت تصادفی در پنج گروه نه‌تایی برای اعمال تیمارهای کادمیوم با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مرتب شدند. هر تیمار شامل نه گیاه منفرد بوده است. به منظور تهیه محلول حاوی کادمیوم با غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، نمک کلراید کادمیوم ($\text{Cd} \cdot \text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (۱۱، ۳۷ و ۵۰) بر حسب غلظت مورد نیاز، در آب مقطر دو بار تقطیر حل و غلظت‌های فوق بدست 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 فاصله پنج روز انجام شد، به این صورت که اولین محلول پاشی در تاریخ ۹۰/۳/۱۲ اجرا شد و پنج روز بعد از آن در تاریخ ۹۰/۳/۱۷ دومین محلول پاشی انجام گردید.

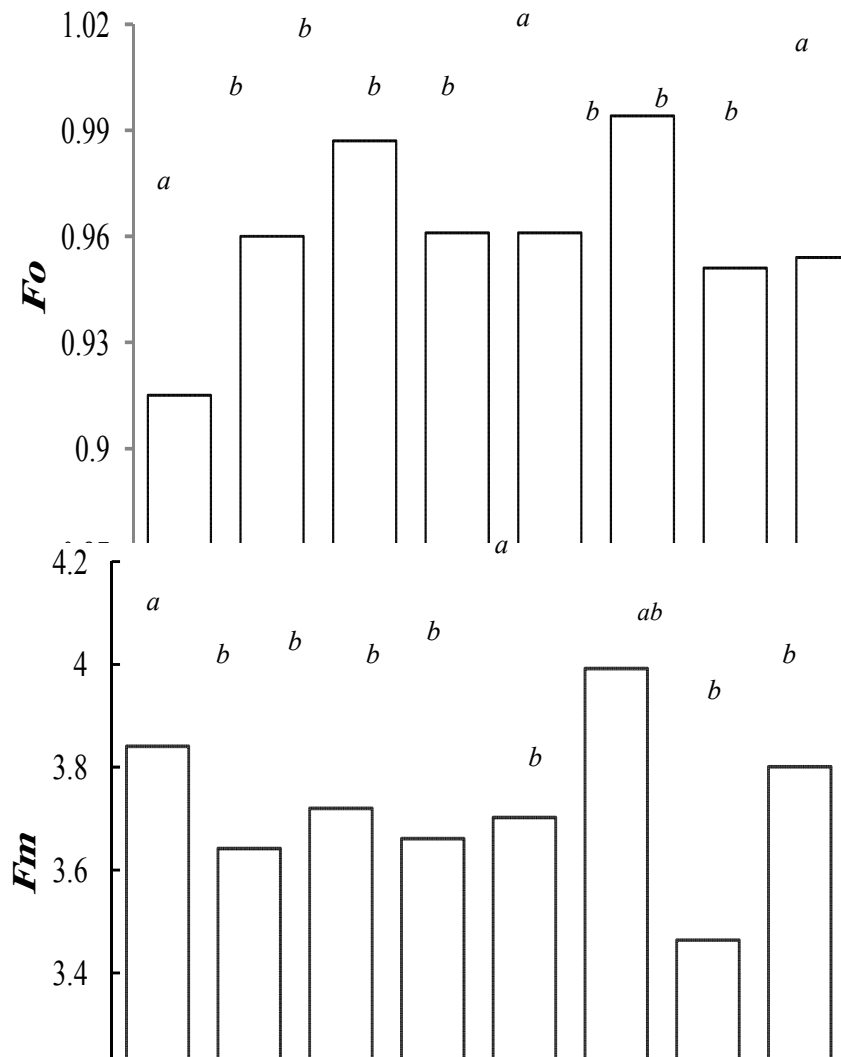
اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل: فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورسانس متر PAM-2500 (Walz, Germany, 2008) مورد سنجش قرار گرفت. بعد از اینکه نهال‌ها با استفاده از غلظت‌های مختلف کادمیوم تیمار شدند، برگ‌های گیاهان با استفاده از کلیپس به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفتند. به دلیل بیشتر بودن میزان فتوسنتز اندازه‌گیریها در محدوده زمانی ۱۱ صبح تا ۱۴ بعدازظهر انجام شد (۳۳)، ضمن اینکه سنجش فلورسانس کلروفیل در طول ده روز بعد از اولین محلول پاشی بصورت یک روز در میان انجام شد.

پارامترهایی از فلورسانس کلروفیل که مورد سنجش قرار

استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها در اثرات ساده و اثرات متقابل با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد در محیط SAS با هم مورد مقایسه قرار گرفتند و نمودارها با استفاده از برنامه Excel ترسیم شدند.

اسپکتروفتومتر (Spectronic 21 UV/Spectrophotometer) در طول موج ۵۲۰ نانومتر (۱۰) خوانده شد. تولوئن خالص نیز به عنوان بلانک دستگاه مورد استفاده قرار گرفت و استانداردها نسبت به آن سنجیده شدند.

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری: 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



شکل ۱- مقایسه میانگین F_o و F_m در غلظت‌های مختلف کادمیوم در افاقیا و داغداغان (وجود حداقل یک حرف مشابه نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد).

های فلورسانس کلروفیل در جدول ۱ آورده شده است. البته میزان F_o و F_m در بین داغداغان و افاقیا اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. فاکتور F_o/F_m بین دو گونه در

نتایج

فلورسانس کلروفیل: نتایج مربوط به تجزیه واریانس داده

می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیوم F_0 افزایش یافت که این افزایش معنی‌دار نبود. F_m با افزایش غلظت کادمیوم کاهش پیدا کرد که این کاهش در روز اول (روز صفر) در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد معنی‌دار بود، در روز دوم در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و در روز چهارم در غلظت‌های ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد معنی‌دار بود. F_v/F_m در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در روزهای اول (روز صفر) و هشتم و در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در روز دوم نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. مقایسه میانگین پارامترهای فلورسانس کلروفیل نشان داد که بازده فتوشیمی فتوسیستم II در برگ-های داغداغان چندان تحت تأثیر سمیت کادمیوم قرار نگرفت.

سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار نشان داد، و طبق نتایج مقایسه میانگین میزان F_v/F_m داغداغان (۰/۷۳۸) بیشتر از اقاچیا (۰/۷۳۱) بود. F_0 در غلظت‌های مختلف کادمیوم نیز اختلاف معنی‌داری نداشت، و F_m و F_v/F_m اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد را نشان دادند. در زمان برداشت هر سه پارامتر در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار را نشان دادند. در اثر متقابل گونه‌های داغداغان و اقاچیا در غلظت‌های مختلف کادمیوم در سطح یک درصد برای F_0 و پنج درصد برای F_m معنی‌دار شدند که نتایج مقایسه میانگین در شکل ۱ آورده شده است. در حالی که برای فاکتور F_v/F_m معنی‌دار نشدند.

جدول ۲ مقایسه میانگین میزان تغییرات F_0 ، F_m و F_v/F_m در طول مدت اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر اساس گروه‌بندی آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد را در داغداغان نشان

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

میانگین مربعات پارامترهای فلورسانس کلروفیل			درجه آزادی	منابع تغییرات
F_v/F_m	F_m	F_0		
۰/۰۱۴*	۰/۱۵۹ ^{ns}	۰/۰۱۶ ^{ns}	۱	نوع گونه
۰/۰۲۹**	۳/۵۲۱**	۰/۰۱۵ ^{ns}	۴	غلظت
۰/۰۲۰**	۹۱/۸۸۰**	۵/۲۳۹**	۴	زمان (روز)
۰/۰۰۵ ^{ns}	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

معنی‌دار نبود. در روزهای دوم و چهارم F_m تحت تأثیر غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم کاهش معنی‌داری یافت. F_v/F_m در برخی غلظت‌های کادمیوم از جمله ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در روزهای اول (روز صفر)، دوم، ششم و هشتم و در غلظت

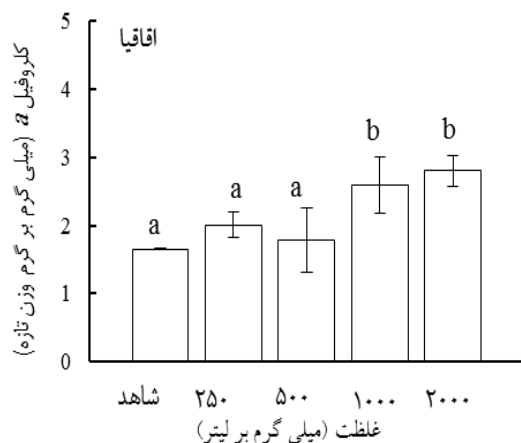
جدول ۳ مقایسه میانگین میزان تغییرات F_0 ، F_m و F_v/F_m در طول مدت اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر اساس گروه‌بندی آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد را در اقاچیا نشان می‌دهد. با افزایش غلظت کادمیوم F_0 افزایش یافت که این افزایش در روزهای مختلف، در هیچ یک از غلظت‌ها

۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در روز چهارم کاهش معنی‌داری را نشان داد.

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

زمان (روز)	کادمیوم (میلی‌گرم بر لیتر)	F_o	F_m	F_v/F_m
۰	شاهد	۰/۷۳±۰/۱۸ ^a	۳/۱۱±۰/۱۴ ^a	۰/۷۴±۰/۰۷ ^a
	۲۵۰	۰/۷۴±۰/۱۹ ^a	۲/۸۴±۰/۱۱ ^b	۰/۷۲±۰/۰۹ ^a
	۵۰۰	۰/۸۶±۰/۲۸ ^a	۲/۴۰±۰/۲۳ ^c	۰/۷۰±۰/۰۷ ^a
	۱۰۰۰	۰/۸۹±۰/۱۵ ^a	۲/۴۳±۰/۲۴ ^c	۰/۶۳±۰/۰۴ ^b
	۲۰۰۰	۰/۹۰±۰/۱۱ ^a	۲/۲۹±۰/۱۸ ^c	۰/۶۱±۰/۰۶ ^b
۲	شاهد	۱/۰۰±۰/۱۵ ^a	۴/۶۶±۰/۳۴ ^b	۰/۷۸±۰/۰۱ ^a
	۲۵۰	۱/۰۳±۰/۱۳ ^a	۴/۵۰±۰/۳۴ ^b	۰/۷۶±۰/۰۴ ^a
	۵۰۰	۱/۱۵±۰/۲۷ ^a	۴/۰۸±۰/۳۴ ^a	۰/۷۴±۰/۰۷ ^a
	۱۰۰۰	۱/۱۶±۰/۲۷ ^a	۴/۱۵±۰/۴۹ ^a	۰/۷۲±۰/۰۷ ^a
	۲۰۰۰	۱/۲۱±۰/۱۹ ^a	۴/۱۱±۰/۳۷ ^a	۰/۷۱±۰/۰۶ ^b
۴	شاهد	۰/۸۶±۰/۱۸ ^a	۴/۱۳±۰/۲۸ ^b	۰/۷۷±۰/۰۱ ^a
	۲۵۰	۰/۹۸±۰/۲۴ ^a	۳/۸۰±۰/۷۴ ^{ab}	۰/۷۶±۰/۰۲ ^a
	۵۰۰	۰/۹۵±۰/۰۷ ^a	۳/۸۹±۰/۳۰ ^{ab}	۰/۷۵±۰/۰۲ ^a
	۱۰۰۰	۱/۰۲±۰/۱۶ ^a	۳/۷۵±۰/۲۷ ^{ab}	۰/۷۴±۰/۰۵ ^a
	۲۰۰۰	۱/۰۳±۰/۱۷ ^a	۳/۶۳±۰/۱۵ ^a	۰/۷۲±۰/۰۵ ^a
۶	شاهد	۱/۱۰±۰/۱۴ ^a	۵/۳۱±۰/۳۱ ^a	۰/۷۸±۰/۰۲ ^a
	۲۵۰	۱/۱۷±۰/۱۲ ^{ab}	۵/۲۰±۰/۴۸ ^a	۰/۷۵±۰/۰۴ ^a
	۵۰۰	۱/۲۱±۰/۲۰ ^{ab}	۴/۹۳±۰/۴۸ ^a	۰/۷۶±۰/۰۲ ^a
	۱۰۰۰	۱/۲۴±۰/۰۸ ^{ab}	۴/۹۰±۰/۲۴ ^a	۰/۷۵±۰/۰۴ ^a
	۲۰۰۰	۱/۳۲±۰/۱۸ ^b	۴/۸۷±۰/۵۲ ^a	۰/۷۶±۰/۰۲ ^a
۸	شاهد	۰/۷۴±۰/۰۳ ^a	۳/۳۳±۰/۱۳ ^a	۰/۷۹±۰/۰۱ ^a
	۲۵۰	۰/۷۷±۰/۰۶ ^a	۳/۳۰±۰/۳۰ ^a	۰/۷۷±۰/۰۱ ^{ab}
	۵۰۰	۰/۸۱±۰/۲۰ ^a	۳/۲۴±۰/۲۱ ^a	۰/۷۶±۰/۰۲ ^{ab}
	۱۰۰۰	۰/۷۹±۰/۱۴ ^a	۳/۰۴±۰/۱۸ ^a	۰/۷۳±۰/۰۶ ^b
	۲۰۰۰	۰/۸۴±۰/۱۴ ^a	۳/۲۳±۰/۴۷ ^a	۰/۷۴±۰/۰۴ ^b

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



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای کلروفیل a در غلظت‌های مختلف کادمیوم در اقاچیا

کلروفیل و پروکلین: نتایج مربوط به تجزیه واریانس داده-

های حاصل از استخراج کلروفیل و پروکلین در جدول ۴ آورده شده است. محتوای کلروفیل a و b در بین دو گونه داغداغان و اقاچیا اختلاف معنی‌داری نداشت و در بین غلظت‌های مختلف کادمیوم کلروفیل a در سطح یک درصد معنی‌دار شد (شکل ۲). همانطور که ملاحظه می‌شود در اثر متقابل گونه در غلظت کلروفیل a و b معنی‌دار نشد، به این معنی که اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم در دو گونه یکسان است و هر دو گونه عکس العمل نسبتاً یکسانی به غلظت‌های کادمیوم نشان می‌دهند.

محتوای کلروفیل a برگ‌های داغداغان تحت تأثیر غلظت-های مختلف کادمیوم تغییر معنی‌داری نشان نداد. اما مقدار کلروفیل a برگ‌های افاقیا تحت تأثیر غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم افزایش معنی‌داری نشان داد. همانطور که مشاهده می‌شود، در هیچ یک از گونه‌ها بین غلظت‌های مختلف کادمیوم از لحاظ میزان کلروفیل b اختلاف معنی‌داری دیده نشد، به این معنی که کلروفیل b دو گونه داغداغان و افاقیا تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم قرار نگرفت.

(وجود حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد، بارها انحراف از معیار میانگین را نشان می‌دهند). تجمع پرولین برگ در دو گونه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. به این معنی که میزان پرولین در دو گونه داغداغان و افاقیا متفاوت بود. همچنین تفاوت تجمع پرولین برگ در بین غلظت‌های مختلف آلاینده در سطح یک درصد معنی‌دار شد، به این معنی که تجمع پرولین تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم روندی افزایشی یا کاهشی داشته است.

جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای F_o (حداقل فلورسانس کلروفیل)، F_m (حداکثر فلورسانس کلروفیل) و F_v/F_m (بازده فتوشیمی فتوسیستم II) در افاقیا تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم و در روزهای مختلف

زمان (روز)	کادمیوم (میلی‌گرم بر لیتر)	F_o	F_m	F_v/F_m
۰	شاهد	۰/۶۲±۰/۱۱ ^a	۲/۴۰±۰/۴۹ ^a	۰/۷۴±۰/۰۳ ^a
	۲۵۰	۰/۷۰±۰/۱۰ ^a	۲/۳۸±۰/۲۵ ^a	۰/۷۰±۰/۰۳ ^{ab}
	۵۰۰	۰/۷۰±۰/۲۰ ^a	۲/۳۰±۰/۲۹ ^a	۰/۶۹±۰/۰۶ ^{ab}
	۱۰۰۰	۰/۷۴±۰/۱۳ ^a	۲/۳۸±۰/۲۴ ^a	۰/۶۸±۰/۰۵ ^b
	۲۰۰۰	۰/۹۴±۰/۱۶ ^b	۲/۵۸±۰/۱۸ ^a	۰/۶۳±۰/۰۴ ^c
۲	شاهد	۱/۱۸±۰/۱۸ ^a	۴/۷۲±۰/۲۳ ^a	۰/۷۴±۰/۰۳ ^a
	۲۵۰	۱/۱۰±۰/۱۰ ^a	۴/۰۷±۰/۵۳ ^a	۰/۷۲±۰/۰۳ ^{ab}
	۵۰۰	۱/۰۵±۰/۲۰ ^a	۳/۶۰±۰/۴۱ ^b	۰/۷۰±۰/۰۵ ^{abc}
	۱۰۰۰	۱/۱۳±۰/۲۵ ^a	۳/۶۰±۰/۴۳ ^b	۰/۶۸±۰/۰۶ ^{bc}
	۲۰۰۰	۱/۱۷±۰/۱۷ ^a	۳/۴۵±۰/۳۴ ^b	۰/۶۵±۰/۰۷ ^c
۴	شاهد	۱/۰۳±۰/۱۳ ^a	۴/۰۵±۰/۴۳ ^a	۰/۷۵±۰/۰۳ ^a
	۲۵۰	۰/۹۲±۰/۱۵ ^a	۳/۵۶±۰/۵۳ ^a	۰/۷۲±۰/۰۳ ^a
	۵۰۰	۰/۹۵±۰/۱۳ ^a	۳/۴۷±۰/۳۳ ^b	۰/۷۲±۰/۰۳ ^a
	۱۰۰۰	۰/۹۰±۰/۱۰ ^a	۳/۳۳±۰/۳۳ ^b	۰/۷۲±۰/۰۱ ^a
	۲۰۰۰	۱/۰۲±۰/۱۴ ^a	۳/۶۳±۰/۳۲ ^b	۰/۷۱±۰/۰۳ ^b
۶	شاهد	۱/۲۲±۰/۱۵ ^a	۵/۲۲±۰/۷۵ ^a	۰/۷۶±۰/۰۱ ^a
	۲۵۰	۱/۳۳±۰/۱۳ ^a	۵/۳۳±۰/۳۸ ^a	۰/۷۵±۰/۰۳ ^{ab}
	۵۰۰	۱/۳۶±۰/۱۶ ^a	۵/۱۰±۰/۲۳ ^a	۰/۷۳±۰/۰۳ ^{ab}
	۱۰۰۰	۱/۳۶±۰/۱۲ ^a	۵/۰۶±۰/۵۷ ^a	۰/۷۲±۰/۰۴ ^b
	۲۰۰۰	۱/۴۳±۰/۱۵ ^a	۵/۰۸±۰/۴۹ ^a	۰/۷۱±۰/۰۳ ^b
۸	شاهد	۰/۷۸±۰/۰۷ ^a	۳/۴۰±۰/۳۳ ^a	۰/۷۷±۰/۰۱ ^a
	۲۵۰	۰/۸۱±۰/۰۹ ^a	۳/۱۲±۰/۳۳ ^a	۰/۷۳±۰/۰۳ ^{ab}
	۵۰۰	۰/۸۳±۰/۱۱ ^a	۳/۰۲±۰/۲۹ ^a	۰/۷۲±۰/۰۵ ^{ab}
	۱۰۰۰	۰/۸۷±۰/۱۳ ^a	۳/۱۸±۰/۱۵ ^a	۰/۷۲±۰/۰۴ ^b
	۲۰۰۰	۰/۹۲±۰/۲۱ ^a	۳/۳۲±۰/۴۰ ^a	۰/۷۲±۰/۰۴ ^b

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

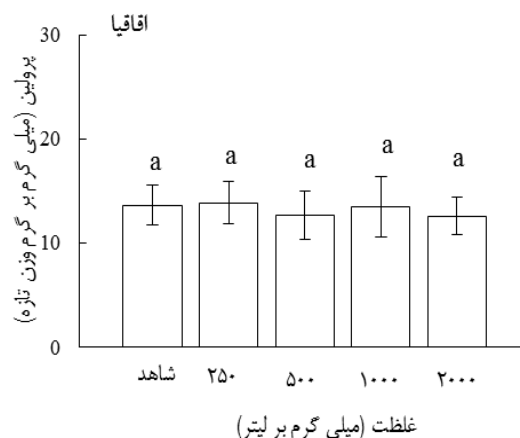
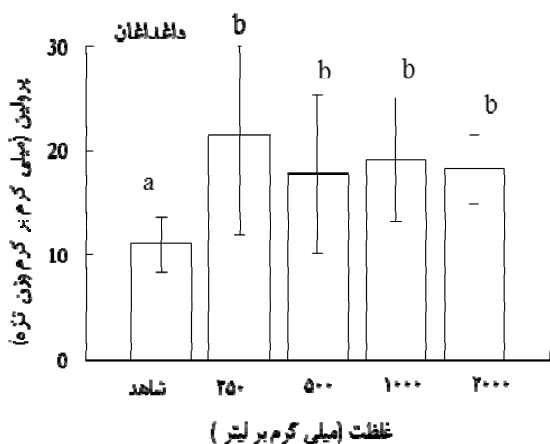
جدول ۴- تجزیه واریانس کلروفیل *a* کلروفیل *b* و پرولین در داغداغان و افاقیا تحت تأثیر فلز کادمیوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	پرولین
گونه	۱	۰/۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۳۶ ^{ns}	۴۷۶/۱۳۴**
غلظت	۴	۰/۴۳۷**	۰/۰۰۰۷ ^{ns}	۷۹/۵۳**
گونه × غلظت	۴	۰/۱۴۹ ^{ns}	۰/۲۲۸۹ ^{ns}	۱۱۵/۹۸۳ ^{ns}
خطا	-	۰/۰۹۳	۰/۰۲۵۲	۱۹/۴۸۸
درصد ضریب تغییرات (%CV)	-	۱۵/۲۷	۲۷/۸۸	۲۹/۵۶۹

** معنی‌دار در سطح اطمینان یک درصد، * معنی‌دار در سطح اطمینان پنج درصد، ns: عدم اختلاف معنی‌دار

شکل ۳ مقایسه میانگین میزان پرولین برگ را تحت تأثیر کادمیوم به تفکیک گونه نشان می‌دهد. میزان پرولین برگ داغداغان تحت تأثیر کادمیوم، در تمام غلظت‌ها نسبت به

شکل ۳ مقایسه میانگین میزان پرولین برگ را تحت تأثیر کادمیوم به تفکیک گونه نشان می‌دهد. میزان پرولین برگ داغداغان تحت تأثیر کادمیوم، در تمام غلظت‌ها نسبت به



شکل ۳- مقایسه میانگین محتوای پرولین در غلظت‌های مختلف کادمیوم در داغداغان و افاقیا

(وجود حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد، بارها انحراف از معیار میانگین را نشان می‌دهند).

تنش‌های محیطی نشان می‌دهد (۳۱). در مطالعه حاضر مقدار فاکتور F_v/F_m برای تیمار شاهد از حد بهینه $0/۸۳$ = F_v/F_m (گزارش شده توسط ۱۳ و ۲۴) کمتر بوده است. جدول‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد که تمام نهال‌ها به طور یکسان تحت تنش اضافه بر تنش کادمیوم قرار داشتند (از آنجایی که نهال‌ها در محیط خارج از گلخانه بودند و

بحث و نتیجه‌گیری

فرایندهای فیزیولوژیک از قبیل فتوسنتز در گیاهان عالی به فلزات سنگین بسیار حساس هستند (۴۸). فاکتور F_v/F_m می‌تواند شاخص خوبی برای نشان دادن عملکرد اجزای فتوسنتزکننده گیاه باشد و توانایی گیاه را به منظور تحمل

و ۱۵). کادمیوم به ساختار کلروپلاست نیز آسیب می‌رساند (۳۶ و ۴۲). غلظت‌های بالای کادمیوم در بافت برگ به طور غیرمستقیم از طریق اختلال در فرایند متابولیک گیاه و پیری زودرس بر روی محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارد (۵۱). اما گزارش شده است که در گیاهان مقاوم محتوای کلروفیل در پاسخ به تیمار فلزات افزایش می‌یابد یا به طور معنی‌دار تغییر نمی‌کند (۱۲ و ۴۷). در تحقیق حاضر که محتوای کلروفیل را ده روز بعد از پاشیدن تیمارهای کادمیوم بر روی نهال‌ها اندازه‌گیری کردیم، افزایش معنی‌دار کلروفیل a را در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کادمیوم را در اقاویا مشاهده کردیم و در داغداغان تفاوتی در کلروفیل در غلظت‌های مختلف کادمیوم دیده نشد. در برخی مطالعات، از جمله مطالعه Tripathi و Gautam در سال ۲۰۰۷ (۴۹)، افزایش ۱۲/۸ درصدی کلروفیل در برگ‌های انبه *Mangifera indica* را که در معرض هوای آلوده قرار داشتند، گزارش کرده‌اند. سیدنژاد و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۴۵) بیان کرده‌اند که مقدار کلروفیل‌های a ، b و کلروفیل کل در برگ‌های برهان (*Callistemon citrinus*) و شیشه شور (*Albizia lebbek*) تحت تأثیر آلودگی هوا که همراه با فلز کادمیوم بوده است، افزایش می‌یابد. نورانی آزاد و کفیل‌زاده در سال ۱۳۸۹ (۴) تأثیر سمیت کادمیوم را بر کلروفیل گیاه گلرنگ بررسی و بیان کردند که در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم کلروفیل a و b کاهش می‌یابد. مرور منابع نشان می‌دهند که میزان متوسط و یا غلظت‌های متوسط آلودگی‌های هوا ممکن است سبب سنتز بیشتر پروتئین شده و بدنبال آن نسبت کلروفیل سالم به کلروفیل تخریب شده، افزایش یابد و نیز غلظت کل رنگدانه‌ها و جذب CO_2 افزایش نشان دهد (۳۹). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که اقاویا با افزایش مقدار کلروفیل تنش حاصل از غلظت‌های بالای کادمیوم را تحمل می‌کند و تنش کادمیوم بر کلروفیل داغداغان تأثیری ندارد و عکس‌العملی نشان نمی‌دهد. پرولین یک آمینو اسید و یک ترکیب منحصر به فرد است

شرایط محیطی قابل کنترل نبود، ممکن است به طور مثال تحت تأثیر تغییرات جوی، یا سایر پارامترهای محیطی قرار گرفته باشند). مرور منابع نشان داد که فلورسانس کلروفیل با قرارگیری در معرض فلزات سنگین کاهش می‌یابد، برای مثال Baumann و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۱۱) گزارش کردند که فلورسانس کلروفیل جلبک‌های *Cladophora rupestris*، *Palmaria palmate* و *Polysiphonia lanos* در غلظت ده میکرومول بر میلی‌لیتر کادمیوم به طور معنی‌داری کاهش یافت. Kopittke و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۲۶) اثر سمی چندین فلز از جمله کادمیوم را بر روی تعدادی گیاه رشد کرده در محلول حاوی فلز ارزیابی کردند و غلظت‌های سمی که برای کادمیوم معرفی کردند (۰/۳ و ۰/۵ میکرومول) کمتر از غلظت‌های بکار گرفته شده در این بود، به عبارت دیگر در مطالعه Kopittke و همکاران (۲۰۱۰) (۲۶)، گیاهان در محلول‌های رقیق شده فلزات رشد کرده بودند، در حالی که در مطالعه حاضر گیاهان در معرض محلول حاوی کادمیوم در یک دوره کوتاه مدت قرار داشتند و فقط محلول بر روی برگ‌ها (پاسخ در Response sheet) پاشیده شد. در تحقیق حاضر F_v/F_m و F_m کاهش یافتند و Ekmekci و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ (۱۷) گزارش کردند F_v/F_m و F_m در برگ‌های ذرت تحت تأثیر غلظت‌های بالای کادمیوم (۰/۶ و ۰/۹ میکرومول) که بصورت آبیاری با محلول‌های غذایی به گیاه اضافه شده بود، کاهش یافت. در شرایط نرمال و طبیعی، Q_A اولین پذیرنده الکترون، با انتقال الکترون به NADP و بعد به CO_2 از طریق Q_B دومین پذیرنده الکترون، 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 (۳۰).

در مطالعات بسیاری گزارش شده است که تحت تأثیر کادمیوم مقدار کلروفیل کل در گیاه کاهش می‌یابد. اولین نشانه واضح سمیت کادمیوم در گیاهان کلروز برگ‌هاست (۹)

زمینی *Arachis hypogaea* که به مدت ۲۵ روز در معرض کادمیوم بودند، افزایش یافت. Schat و همکارانش در سال ۱۹۹۷ (۴۴)، دلیل تجمع پرولین در بافت‌های گیاهان تحت تنش کادمیوم را کاهش پتانسیل آب گیاه بیان کردند، بنابراین این تجمع می‌تواند وابسته به تعادل آب در بافت‌های گیاه باشد.

مقاومت درختان به تنش‌های محیطی از جمله مواردی است که باید در برنامه‌های جنگل‌کاری مورد توجه قرار بگیرند. 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 اقاچیا را به تنش کادمیوم نشان می‌دهد. با وجود این 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.

که تجمع آن در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی تحت تأثیر تنش گزارش شده است (۳، ۸ و ۲۱). همچنین گزارش شده است که پرولین یکی از عمومی‌ترین آمینو اسیدهای گیاهی است که گیاه را تحت تنش‌های مختلف محافظت می‌کند (۷). El-Swaf و El-Khatib در سال ۲۰۰۱ (۱۸) تجمع پرولین در درختان کاشته شده در مناطق شهری تحت ذرات ریز گرد و غبار و آلاینده‌های هوا را کشف کردند. در مطالعه حاضر، پرولین در برگ‌های داغداغان در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی-گرم بر لیتر کادمیوم نسبت به شاهد افزایش یافت و در اقاچیا تغییری در پرولین برگ دیده نشد و ممکن است بتوان این طور بیان کرد که میزان تنش وارد شده به اقاچیا در حدی نبوده است که برگ با تولید پروتئین، گیاه را از آسیب تنش وارد شده محافظت کند. Dinakar و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۱۶) بیان کردند که با افزایش غلظت‌های کادمیوم، میزان پرولین در برگ‌ها و ریشه نهال‌های بادام

منابع

- ۱- جانی قربان. م. ۱۳۹۰. استفاده از گونه‌های بومی در ایجاد فضای سبز با تاکید بر موارد کاربرد آنها. نخستین همایش باغ‌گیاه‌شناسی ملی ایران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ایران.
- ۲- قاسمی. ر. و ع مدیر رحمتی. ۱۳۸۵. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی احداث کلکسیون پایه مادری صنوبر، محل تحقیقات مجتمع تحقیقاتی البرز کرج.
- ۳- میرزایی. م. ا معینی. و ف قناتی. ۱۳۹۲. اثر تنش خشکی بر میزان پرولین و قندهای محلول گیاهچه های کلزا (*Brassica napus*). مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۶ (۱): ۹۸-۹۰.
- ۴- نورانی آزاد. ح. و ف کفیل‌زاده. ۱۳۸۹. تاثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه های فتوسنتزی و برخی آنزیمها در گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*). مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۴ (۶): ۸۶۷-۸۵۸.
5. 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: 8 pp.
6. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
7. Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206-216.
8. Aspinall, D., and Paleg, L.G. 1981. Proline accumulation: Physiological aspects In *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*, 205-241. Academic Press, Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco.
9. Baryl, A.P., Carrier, F., Franck, C., Coulomb, C., and Sahut, M. 2001. Havaux, Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Journal of Planta*, 212: 696-709.

10. Bates, L.S., Waldron, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205–20.
11. Baumann, H.A., Morrison, L., 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.
12. Baszyński, T., Król, M., Krupa, Z., Ruszkowska, M., Wojcieszka, U., and Wolińska, D. 1982. Photosynthetic apparatus of spinach exposed to excess of copper. *Z. Pflanzenphysiol*, 108: 385–392.
13. Björkman, O., Demmig, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Journal of Planta*, 170: 489–504.
14. Chaffei, C., Gouia, H., and Ghorbel, M.H. 2003. Nitrogen metabolism in tomato plants under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*, 26:1617-1634.
15. Das, P., Samantaray, S, and Rout, G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, 98: 29–36.
16. Dinakar, N., Nagajyothi, P.C., Suresh, S., Udaykiran, Y., and Damodharam, T. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. *Environmental Science*, 20: 199–206.
17. Ekmekci, Y., 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.
18. El-Khatib, A.A., and El-Swaf, N. 2001. Phytotoxicity of air particulate pollutants (dust) on the urban trees. *Bulletin of Faculty of Science, Assiut University Egypt*, 30: 183–193.
19. 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.
20. 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.
21. Heuer, B. 1994. Osmoregulatory role of proline in water and salt stressed plants. In *Handbook of Plant and Crop Stress*. Ed. M Pessaraki, pp 363–381. Marcel Dekker. New York. Basel. Hong Kong.
22. Joshi, P.C., and Swami, A. 2009. Air pollution induced changes in the photosynthetic pigments of selected plant species. *Environmental Biology*, 30: 295–298.
23. 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.
24. Johnson, W.R., and Proctor, J.A. 1977. Comparative study of metal levels in plants from two contrasting lead mine sites. *Plant and Soil*, 46: 251–257.
25. Kabata-Pendias, A., and Pendias, H. 1986. *Trace Elements in Soils and Plants*. Florida: CRC Press Inc, Boca Raton.
26. Kopittke, P.M., Pax, F., Blamey, C., Colin, J., Neal, A., and Menzies, W. 2010. Trace metal phytotoxicity in solution culture: a review. *Journal of Experimental Botany*, 61: 945–954.
27. Kramer, P.J., and Kozlowski, T.T. 1979. *Physiology of Woody Plants*. Orlando: Academic Press.
28. 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.
29. Lichtenthaler, and Rinderle. 1988. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress condition in plants. *CRC Crit. Rev. Annals Chemistry*, 19:529–585.
30. 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.
31. Maxwell, K., and Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Experimental Botany*, 51: 659–668.
32. Metwally, A., Finkemeier, I., George, M., and Dietz, K.J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology*, 132:272-281.
33. 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. 8 pp.

34. Mohammed, G.H., Tejada, P.Z., and Miller, J.R. 1955. Applications of Chlorophyll Fluorescence in Forestry and Ecophysiology. Chapter 3. 35 pp.
35. Nielson, H.D., Brownlee, C., Coelho, S.M., and Brown, M.T. 2003a. Inter population difference in inherited copper tolerance involve photosynthetic adaptation and exclusion mechanisms in *Fucus serratus*. *New Phytologist*, 160: 157–165.
36. Ouzounidou, G., Moustakas, M., and Eleftheriou, E.P. 1997. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves, *Arch. Environmental Contamination Toxicology*, 32: 154–160.
37. 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.
38. 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, pp. 117–138.
39. Ra, H.S.Y., Geiserb, L.H., and Crang, R.F.E. 2005. Effects of season and low-level air pollution on physiology and element content of lichens from the U.S. Pacific Northwest. *Science of the Total Environment*, 343:155–167.
40. 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.
41. Ralph, P.J., and Burchett, M.D. 1998. Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. *Environmental Pollution*, 103: 91–101.
42. Rascio, N., Vecchia, F.D., Ferretti, M., Merlo, L., and Ghisi, R. 1993. Some effects of cadmium on maize plants. *Environmental Contamination Toxicology*, 25: 244–249.
43. 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.
44. Schat, H., Sharma, S.S., and Vooijs, R. 1997. Heavy metal-induced accumulation of free proline in metal-tolerant and non tolerant ecotypes of *Silene vulgaris*. *Plant Physiology*, 10: 477–482.
45. Seyyednejad, S.M., Niknejad, M., and Yusefi, M. 2009. Study of air pollution effects on some physiology and morphology factors of *Albizia lebbek* in high temperature condition in Khuzestan. *Plant Science*, 4: 122–126.
46. Sezgin, N., H.K., Ozcan, G., Demir, S., Nemlioglu, and Bayat, C. 2003. Determination of heavy metal concentration in street dusts in Istanbul E-5 highway. *Environmental International*, 29: 979–985.
47. Stiborova, M., Dubravova, M., Brezinova, A., and Friedrich, A. 1986. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley. *Photosynthetica*, 20: 418–425.
48. Tanyolac, D., Ekmekci, Y., and Ünal, S. 2007. Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper. *Chemosphere*, 67: 89–98.
49. Tripathi, A.K., and Gautam, M. 2007. Biochemical parameters of plants as indicators of air pollution and Environment, 28: 127–132.
50. 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.
51. Vassilev, A., Yordanov, I., and Tsonev, T. 1997. Effects of Cd²⁺ on the physiological state and photosynthetic activity of young barely plants. *Photosynthetica*, 34: 293–302.

Cadmium effect on the chlorophyll fluorescence, chlorophyll pigments and proline contents of *Celtis caucasica* and *Robinia pseudoacacia* seedlings leaves

Dezhban A.¹, Shirvany A.¹, Attarod P.¹, Delshad M.² and Matinizadeh M.³

¹ Forestry and Forest Economics Dept., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

² Horticultural Sciences Dept., Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

³ Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Heavy metals such as cadmium generating by urban activities, industrial and agricultural create abiotic stress in the plants which is one of the most important stress affecting physiological activities of plants. In this study, the effects of Cd was investigated on chlorophyll fluorescence (F_v/F_m , F_o , and F_m), photosynthetic pigments (a and b), and proline in one-year-old seedlings of *Celtis caucasica* and *Robinia pseudoacacia*. Saline solution containing Cd was sprayed on the leaves similar to rainfalls contain of dust and heavy metals. The seedlings were treated during ten days, two times, with different concentrations of Cd (0 (control), 250, 500, 1000 and 2000 mg/L). Chlorophyll fluorescence was measured every other day during ten days. Chlorophyll and proline contents were measured ten days after Cd treatments. The results indicated that chlorophyll fluorescence of *C. caucasica* and *R. pseudoacacia* were affected slightly by high concentrations (1000 and 2000 mg/L) of Cd, so that F_v/F_m in both species decreased. The chlorophyll a of *Robinia* at 1000 and 2000 mg/L of Cd increased and in *Celtis* showed no significant difference in all treatments of Cd. The chlorophyll b showed no significant difference in all treatments of cadmium in *C. caucasica* and *R. pseudoacacia*. Proline content in the *C. caucasica* increased at 250, 500, 1000 and 2000 mg/L of Cd. *C. caucasica* and *R. pseudoacacia* were affected slightly by Cd. Photosystem II, chlorophyll pigments didn't damage by Cd stress. Other physiological characteristics should be considered in future studies in order to selecting of tree species for afforestation projects in urban polluted areas.

Key words: Cadmium, Chlorophyll fluorescence, *Celtis caucasica*, *Robinia pseudoacacia*