

## پاسخ‌های فیزیولوژیک نهال‌های اقاچیا (*Robinia pseudoacacia* L.) به تنش خشکی

فرشته کردرستمی<sup>۱</sup>، انوشیروان شیروانی<sup>۲</sup>، پدرام عطارد<sup>۳\*</sup>، مصطفی خوشنویس<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۲. استادیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۳. دانشیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۴. مربی مؤسسه تحقیقات سازمان جنگل‌ها، مراتع و آبخیزداری کشور

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۱۰، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۸

### چکیده

بررسی واکنش‌های فیزیولوژیک گونه‌ها به تنش خشکی می‌تواند به شناسایی سازوکارهای مؤثر در مقاومت به خشکی و نیز انتخاب بهترین گونه برای کاشت در مناطق کم‌آب ایران کمک کند. این پژوهش با هدف شناسایی سازوکار فیزیولوژیک نهال‌های اقاچیا (*Robinia pseudoacacia* L.) تحت شرایط خشکی انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با یک تیمار (دوره آبیاری)، در پنج سطح (فاصله‌های ۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ روزه) و پنج تکرار بر روی نهال‌های یکساله اقاچیا انجام گرفت و به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل ( $F_0$  و  $F_m$ ،  $F_v/F_m$ ) و مقدار کلروفیل  $a$ ،  $b$  و کلروفیل کل و محتوای پرولین با نمونه‌برداری از برگ‌های انتهایی تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی، سبب کاهش معنی‌دار فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) و فلورسانس اولیه ( $F_0$ ) در گونه اقاچیا، در سطح ۵ درصد می‌شود. تحت شرایط تنش خشکی، در محتوای کلروفیل اقاچیا اختلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف آبیاری مشاهده نشد. با افزایش شدت تنش، تجمع پرولین در برگ از ۹/۸۲ در تیمار یک‌روزه به ۷۷/۴۰ میکرومول بر گرم برگ تازه در تیمار پنج‌روزه افزایش یافت. با توجه به نتایج می‌توان گفت اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل و مقدار پرولین برگ اقاچیا، به‌عنوان شاخص تعیین میزان تحمل به خشکی، به‌منظور انتخاب آن برای کاشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک مفید خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: اقاچیا، پرولین، تنش خشکی، فلورسانس کلروفیل.

### مقدمه

آنها کمتر است، انتخاب شوند [۱]. فتوسیستم II نقش مهمی در پاسخ فتوسنتزی به عوامل محیطی در گیاهان عالی دارد. فلورسانس کلروفیل اطلاعاتی را در زمینه وضعیت فتوسیستم II در اختیار ما قرار می‌دهد [۲]. این روش در سال‌های اخیر در پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی به‌عنوان روشی سریع، حساس و غیرتخریبی، با توجه بسیار مواجه شده است [۳]. در این روش از شاخص‌ها و روش‌های متعددی برای بررسی فرایندهای دخیل در خاصیت فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. به‌عنوان مثال، در حالت عادت‌کرده به تاریکی، شاخص  $F_v/F_m$  نشان‌دهنده بیشینه کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II بوده

ایران جزو کشورهای با پوشش اندک جنگل است و بنابراین نیاز به توسعه گسترده فضای سبز و جنگلکاری احساس می‌شود. با توجه به ضروری بودن جنگلکاری و همچنین کمبود منابع آب، گزینش و بهره‌وری از گونه‌های مقاوم در برابر خشکی از اهمیت زیادی برخوردار است. گیاهان نیازهای آبی مختلفی دارند، از این رو، بسته به شرایط اکولوژیک منطقه، باید گیاهان مناسب که نیاز آبی اندکی دارند و اثر خشکی بر

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۶۳۲۲۳۰۴۴

در حدود ۷ کیلومتری مرکز شهر کرج با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۰۰ متر از سطح دریا، روی نهال‌های یکساله گونه درختی اقاچیا انجام گرفت.

بذرهای اقاچیا، از درختان اقاچیا موجود در مرکز تحقیقات البرز جمع‌آوری شد. یک سال پیش از آغاز این تحقیق، در فروردین سال ۱۳۹۰، بذرهای در گلدان‌هایی به ابعاد ۱۵×۴۰ سانتی‌متر، حاوی رس، شن و کود زراعی با نسبت‌های ۲:۱:۱ کاشته شدند. نهال‌ها در خارج از محیط گلخانه و در شرایط طبیعی و یکسان رشد کردند و آبیاری آنها به صورت روزانه انجام گرفت. در خرداد ۱۳۹۱، نهال‌ها پس از رشد و توسعه سیستم ریشه‌دوانی، به محل آزمایش منتقل شدند. در محل آزمایش شرایط به نسبت یکسانی از لحاظ دریافت نور خورشید برای تمام نهال‌ها مهیا شد. نهال‌ها دو ماه در محل آزمایش به منظور سازگار شدن با شرایط جدید باقی ماندند و سپس ۳۵ نهال یکسان از هر گونه انتخاب شدند و تحت تأثیر تیمار تنش و شاهد قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد نهال‌ها به صورت تصادفی در پنج گروه هفت تایی به منظور اعمال تیمار رژیم رطوبتی مرتب شدند. در هر گروه دو نهال به عنوان اثر حاشیه‌ای در نظر گرفته شد، پنج نهال به عنوان شاهد انتخاب و یک روز در میان آبیاری شدند. سایر نهال‌ها تحت تیمارهای مختلف آبیاری قرار گرفتند و به ترتیب با فواصل مشخص سه، پنج، هفت و نه‌روزه آبیاری شدند و به این ترتیب کل دوره اعمال تیمار نه روز به طول انجامید.

#### اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

برای اندازه‌گیری مقدار فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس‌متر (PAM-2500/Walz, Germany) استفاده شد. برای این منظور چند گیره مخصوص، پس از اطمینان از بسته بودن دریچه آنها، روی برگ‌های بالغ و سالم سوم یا چهارم از بالا نصب شدند تا برگ‌ها در شرایط تاریکی

و شاخص حساسی برای عملکرد فتوسنتزی گیاه است، به طوری که مقدار این شاخص برای اکثر گونه‌های گیاهی در شرایط معمول محیطی حدود ۰/۸۳ است [۴]. مقدارهای کمتر از این عملکرد زمانی مشاهده می‌شود که گیاه با تنش مواجه شده باشد [۵]. بنابراین در تحقیق‌های متعدد، برای گزینش گونه‌های مقاوم به خشکی استفاده شده است. فلورسانس اولیه یا  $F_0$  (در تمام مراکز واکنش فتوسیستم II باز هستند؛ در این وضعیت سیستم دارای حداقل فلورسانس است) تحت تأثیر تنش‌های محیطی که تغییرهایی ساختاری در مراکز واکنش اولیه فتوسیستم II به وجود می‌آورند، قرار می‌گیرند و بنابراین، تنش خشکی و گرما با خسارت زدن به مراکز واکنش فتوسیستم II موجب افزایش شدید  $F_0$  می‌شوند [۶]. کارایی افت غیرفتوشیمیایی فلورسانس نیز به عوامل بیرونی و درونی زیادی وابسته است و در تغییرات  $F_m$  یا فلورسانس حداکثر منعکس می‌شود [۷]. محققان با تحقیق‌های زیاد روی انواع گیاهان، بعضی از اثرهای خشکی بر آنها را شناخته‌اند و در پی سازوکارهای گوناگون تحمل در گیاهان و همچنین یافتن روش‌هایی برای سنجش تنش بوده‌اند تا شاید بتوان با شناخت آنها و چگونگی اثر آنها، گامی در جهت حفظ عملکرد گیاهان در شرایط تنش برداشت. اما هنوز با توجه به تنوع راهکارها، بسیاری از آنها ناشناخته مانده است. هدف تحقیق حاضر، بررسی برخی از واکنش‌های فیزیولوژیک اقاچیا (*Robinia pseudoacacia* L.) به تنش خشکی است. تغییرات غلظت کلروفیل a و b و کلروفیل کل، واکنشی کوتاه‌مدت به تنش و معیاری از حفظ قدرت منبع در شرایط تنش خشکی در نظر گرفته شد. تغییر یکی از ترکیبات اسمزی آلی (پرولین) نیز واکنشی میان‌مدت به خشکی ارزیابی شد که شاخصی برای تنظیم اسمزی تحت شرایط تنش است.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد گیاهی و شرایط رشد

این تحقیق، در سال ۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات البرز، واقع

و ۶۶۳ نانومتر با استون خالص به‌عنوان نمونه‌عاری از کلروفیل، استاندارد شد. سپس مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر (mg/gFW) براساس روابط زیر محاسبه شد.

$$\text{Chl a} = [(12/7 \times A_{663}) - (2/69 \times A_{665})] \times V/1000W \quad (1)$$

$$\text{Chl b} = [(22/9 \times A_{665}) - (4/68 \times A_{663})] \times V/1000W \quad (2)$$

$$\text{Chl}_{(a+b)} = [(20/2 \times A_{665}) - (8/02 \times A_{663})] \times V/1000W \quad (3)$$

### اندازه‌گیری پرولین

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) [۱۰] با نمونه‌برداری از برگ‌های بالغ، سالم و بدون لکه‌های نکروزه، انجام گرفت. سپس پرولین محلول استخراج‌شده به‌مقدار کافی در کووت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و مقدار جذب پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. به‌منظور کمی کردن تغییرات پرولین در نمونه‌های آزمایش، منحنی استاندارد جذب براساس دامنه تغییر رنگ در نمونه‌هایی با مقادیر پرولین مشخص شد. تولوئن خالص نیز به‌عنوان بلانک دستگاه استفاده شد و استانداردها نسبت به آن سنجیده شدند و غلظت پرولین بر حسب میکرومول پرولین در گرم وزن تر برگ براساس رابطه ۴ محاسبه شد.

$$\mu\text{moles} \frac{\text{Proline}}{\text{g}} \text{ of fresh weight material} = \left[ \frac{\left( \frac{\mu\text{g Proline}}{\text{ml}} \times \text{ml Toluene} \right)}{115/5 \mu \frac{\text{g}}{\mu\text{mole}}} \right] \left( \frac{\text{g sample}}{5} \right) \quad (4)$$

### نتایج و بحث

#### پارامترهای فلورسانس کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس داده‌های فلورسانس کلروفیل در قالب طرح کاملاً تصادفی با یک فاکتور (زمان آبیاری) در ۵ سطح (۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ روزه) در ۵ تکرار در جدول ۱ آورده شده است. تیمارهای مختلف در  $F_m$ ،  $F_0$  و  $F_v/F_m$  اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد دارند.

قرار گیرند و واکنش‌های روشنایی فتوسنتز متوقف شود. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، فیبر نوری دستگاه به گیره‌ها متصل شده و در پیچه آنها باز شد. سپس برگ‌ها به مدت ۱ ثانیه در معرض پالس اشباع نوری قرار گرفتند و با اندازه‌گیری فلورسانس پایه ( $F_0$ ) و فلورسانس ماکزیمم ( $F_m$ )، عملکرد فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) محاسبه و ثبت شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در دوره زمانی ۱۰ صبح تا ۱۴ انجام گرفت، زیرا در گونه‌های درختی جنگلی (گیاهان  $C_3$ ) در این محدوده زمانی، فلورسانس کلروفیل تمایل به ثابت شدن دارد [۸].

#### اندازه‌گیری مقدار کلروفیل برگ

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل برگ، نمونه‌ها از تیمارهای تنش و شاهد گرفته شد. برگ‌ها در کیسه‌های نایلونی به آزمایشگاه منتقل و تا زمان اندازه‌گیری محتوای کلروفیل در داخل فریزر ( $-80^\circ$  درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. برای استخراج و اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل کل از روش آرنون استفاده شد [۹]. مقدار کلروفیل محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر (CAIHONG722UV) اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری، دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵

#### روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور مقایسه میانگین و رسم نمودارها، از نرم‌افزار SPSS، 17 و Excel، 2007 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف ارزیابی شده و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون سنجیده شد. سپس به‌کمک آزمون‌های دانکن یا گیمز هاول میانگین پارامترهای اندازه‌گیری‌شده مقایسه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از SPSS 17 انجام گرفت.

کاهش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دو وضعیت رخ می‌دهد: اول زمانی که برگ‌ها به‌طور ناگهانی در معرض نور شدید قرار گیرند که به مرکز فتوسیستم II صدمه می‌زند؛ و دوم زمانی که در معرض تنش آبی قرار گیرند. در این حالت، کاهش، مربوط به افزایش شدید انرژی برانگیختگی غیرتشنه‌شی می‌شود که به آزادسازی انرژی به‌صورت حرارتی می‌انجامد [۱۳]. نتایج تحقیق ممنوعی و شریفی (۱۳۸۹) روی شش ژنوتیپ جو تحت تأثیر ۵ سطح آبیاری ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی، کاهش معنی‌دار  $F_m$  و  $F_v/F_m$  و افزایش معنی‌دار  $F_0$  را نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۱۴].

### کلروفیل

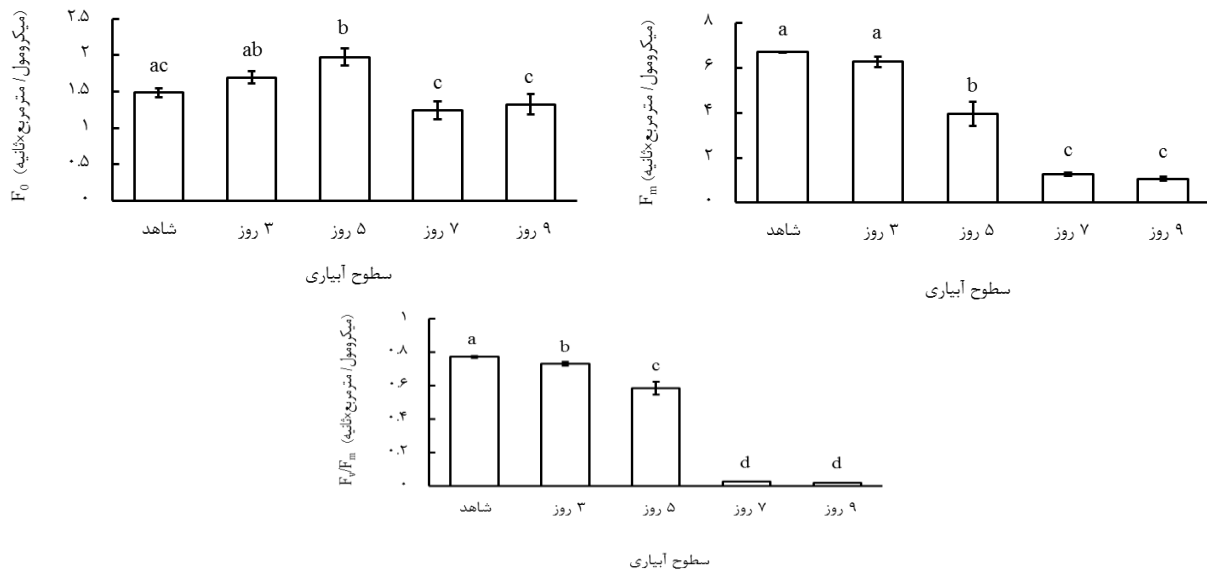
نتایج حاصل از استخراج رنگیزه‌های فتوستتزی نشان می‌دهد که در بین تیمارهای مختلف آبیاری از نظر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. رنگیزه‌های کلروپلاست در جذب نور و تبدیل نور در فرایند فتوستتز نقش مهمی دارند. به‌طور کلی در اکثر گیاهان، بر اثر تنش آبی محتوای رنگدانه‌های فتوستتزی (کلروفیل) کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان دادند که محتوای کلروفیل در گیاهان با مقاومت کم نسبت به خشکی، با افزایش خشکی کاهش می‌یابد. همچنین تعدادی از محققان نیز بیان کردند که طی تنش، به‌دلیل وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن برگ، مقدار کلروفیل ممکن است افزایش یابد [۱۵]. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های گزارش شده تطابق ندارد. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در تحقیق حاضر مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی تحت تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری قرار نگرفت که نشان می‌دهد مقدار این رنگیزه‌ها در افاقا تحت تأثیر تنش قرار نمی‌گیرند و ساختارشان تخریب نمی‌شود. مرور منابع نشان می‌دهد که نتایج این تحقیق در مورد همه گیاهان و در تمام شرایط صدق نمی‌کند.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، مقدار  $F_0$  ابتدا به‌صورت صعودی تا روز پنجم افزایش داشت. این افزایش را می‌توان به علت تأثیر تنش خشکی بر مرکز واکنش فتوسیستم II یا کاهش انتقال انرژی از آنتن به مرکز واکنش نسبت داد [۱۱]. افزایش  $F_0$  نشان‌دهنده افزایش فلورسانس و انهدام یا خرابی مراکز واکنش فتوسیستم II یا اختلال در انتقال انرژی الکترون برای برانگیختگی مراکز واکنش است. Araus و همکاران (۱۹۹۸) [۶] در تحقیقی مشاهده کردند که مقدار  $F_0$  در شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر تا روز پنجم مطابقت می‌کند. کاهش فلورسانس حداقل نشان‌دهنده افزایش واکنش‌های فتوشیمیایی است که این کاهش در آبیاری هفت‌روزه و نه‌روزه را می‌توان با افزایش مقدار پرولین توجیه کرد. از آنجا که افزایش پرولین در شرایط کم‌آبی از جمله سازوکارهایی است که به بهبود عملکرد گیاه در این شرایط کمک می‌کند، افزایش پرولین در این آزمایش موجب افزایش واکنش‌های فتوشیمیایی و در نتیجه کاهش فلورسانس حداقل شده است. مقدار  $F_m$  از روز پنجم کاهش معنی‌داری در سطح ۱ درصد داشت. کاهش فلورسانس حداکثر در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده اکسیداسیون کمتر اولین پذیرنده الکترون فتوسیستم II و نیز افزایش واکنش‌های فتوشیمیایی است [۱۲]. در این تحقیق کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) نیز همانند فلورسانس حداکثر با افزایش سطوح تنش خشکی روند کاهشی نشان داد، به‌طوری که کاهش از روز سوم معنی‌دار شد و در روز هفتم و نهم به حداقل رسید. مقدار  $F_v/F_m$  نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II است که با عملکرد کوانتومی فتوستتز خالص همبستگی قوی دارد [۲]؛ بنابراین کاهش نسبت  $F_v/F_m$  نشانه کاهش حفاظت نوری است و همچنین دلیلی است بر اینکه تنش خشکی بر کارایی فتوستتز اثر معنی‌داری گذاشته است.

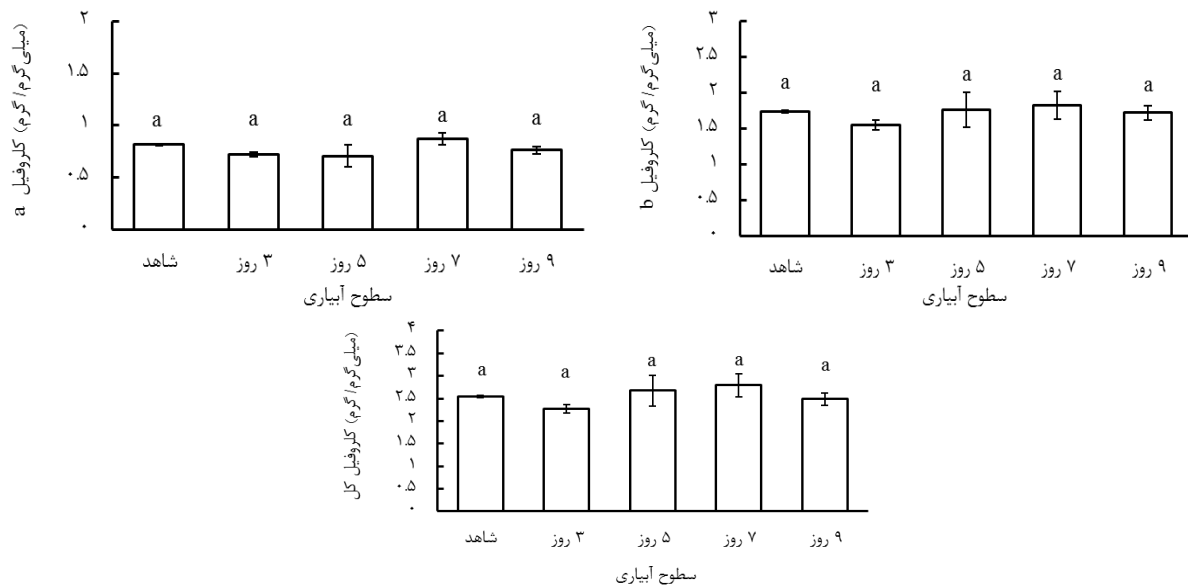
جدول ۱. تجزیه واریانس پارامترهای فلورسانس کلروفیل شامل فلورسانس حداقل ( $F_0$ )، فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) و نسبت تغییرات فلورسانس به فلورسانس حداکثر ( $F_v/F_m$ ) در گونه افاقیا تحت تأثیر زمان آبیاری

میانگین مربعات پارامترهای فلورسانس کلروفیل افاقیا				
$F_v/F_m$	$F_m$	$F_0$	درجه آزادی	منابع تغییرات
۱/۱۰۳**	۴۸۴/۵۹**	۱/۲۰۵**	۴	تیمار
۰/۰۴۲	۲/۴۳	۰/۱۴۸	۵۴	خطا

\*, \*\* و ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار



شکل ۱. مقایسه میانگین تغییرات پارامترهای فلورسانس کلروفیل شامل فلورسانس حداقل ( $F_0$ )، فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) و نسبت تغییرات فلورسانس به فلورسانس حداکثر ( $F_v/F_m$ ) در افاقیا بین سطوح مختلف آبیاری (حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن است)

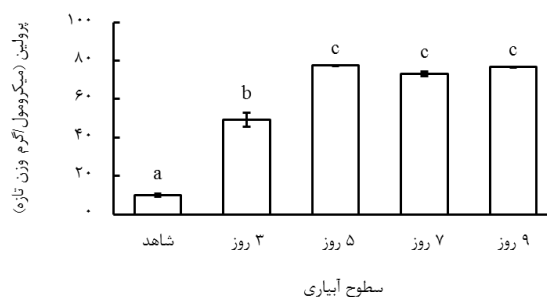


شکل ۲. مقایسه میانگین تغییرات محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ افاقیا بین سطوح مختلف آبیاری (حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن است)

## پرولین

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، تجمع پرولین در برگ افاقیا دارای روند افزایشی است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که تأثیر رژیم آبیاری بر غلظت پرولین برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. با افزایش تنش خشکی مقدار پرولین از ۹/۸۲ در تیمار یک‌روزه به ۷۷/۴۰ میکرومول بر گرم تازه در تیمار پنج‌روزه افزایش یافت. غلظت پرولین در تیمارهای هفت و نه‌روزه افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار پنج‌روزه نشان نداد. Elsheery and Cao (۲۰۰۸) [۱۶] گزارش کردند که مقدار پرولین در نهال‌های دو کولتیوار مانگو که به مدت ۱۵ روز در معرض

تنش خشکی بودند، افزایش یافت که نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کند. برای تجمع پرولین در گیاه در هنگام تنش خشکی دلایل مختلفی بیان شده است. به‌طور کلی تنش خشکی از طریق افزایش بیان آنزیم‌های بیوسنتزکننده پرولین و افزایش بیان آنزیم‌های تخریب پرولین سبب افزایش پرولین گیاه می‌شود [۱۷]. با توجه به نتایج، می‌توان نتیجه گرفت که گیاهان در هنگام تنش خشکی با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیک خود ایجاد می‌کنند، به تنش‌های مختلف پاسخ می‌دهند. یکی از این پاسخ‌ها تجمع پرولین است که تحقیقات نشان می‌دهد تجمع آن در تحمل شرایط خشکی مؤثر است [۱۸].



شکل ۳. مقایسه میانگین تغییرات محتوای پرولین در برگ گونه افاقیا بین سطوح مختلف آبیاری (حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن است)

فتوسنتزی، همسو با تقویت نتایج آنالیز فلورسانس کلروفیل نیست. به این صورت که هر جا فلورسانس کلروفیل کاهش یافت، محتوای کلروفیل بدون تغییر بود. دلیل احتمالی مستقل بودن پاسخ‌های فیزیولوژیک افاقیا از یکدیگر است. با توجه به تغییر نکردن محتوای کلروفیل در تیمارهای مختلف می‌توان نتیجه گرفت که تنش تأثیری بر سنتز کلروفیل در افاقیا نداشته است و از این‌رو تعیین محتوای کلروفیل، شاخص خوبی برای سنجش مقاومت آن به تنش خشکی نیست. درحالی که اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل به‌ویژه پارامتر  $F_v/F_m$  و مقدار پرولین برگ افاقیا، به‌عنوان شاخص تعیین میزان تحمل به خشکی، به‌منظور انتخاب آن برای کاشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک مفید خواهد بود.

اقاقیا با افزایش مقدار پرولین، تنش ناشی از کمبود آب را تحمل می‌کند. افزایش پرولین نشان‌دهنده نقش این اسید آمینه در تنظیم فشار اسمزی است. تنظیم اسمزی در گیاهان، سازوکار اصلی اجتناب از تنش‌های آبی در محیط‌های خشک و شور است و شدت آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین‌گونه‌ای بستگی دارد. علاوه بر تنظیم اسمزی، پرولین به‌عنوان محافظ در برابر تنش عمل می‌کند، بدین ترتیب که به‌طور مستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل دارد و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها تحت شرایط تنش کمک می‌کند [۱۹].

## نتیجه‌گیری

در این تحقیق، نتایج حاصل از استخراج رنگیزه‌های

## References

- [1]. Rastgar, M.A. (1992). Dry farming, Barahmand press, Tehran.
- [2]. Fracheboud, Y. (2006). Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis, Institute of Plant Sciences, ETH- Zurich, Universitatstrasse, CH-8092 Zurich, Switzerland.
- [3]. Baker, N.R., and Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403): 1607-1621.
- [4]. Bjorkman, O., and Demming, 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(4): 489-504.
- [5]. Johnson, G.N., Young, A.J., Scholes, J.D., and Horton, P. (1993). The dissipation of excess excitation energy in British plant species. *Plant, Cell and Environment*, 16(6): 673-679.
- [6]. Araus, J.L., Amaro, T., Voltas, J., Nakkoul, H., and Nachit, M.M. (1998). Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 55(3): 209-223.
- [7]. Maxwell, K., and Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence- a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345): 659-668.
- [8]. Noland, T.L., and Mohammed, G.H. (1997). Fluorescein diacetate as a viability stain for tree roots and seeds. *New Forests*, 14(3): 221-232.
- [9]. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1): 1-15.
- [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(1): 205-207.
- [11]. Ralph, P.J., and Burchett, M.D. (1998). Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. *Environmental Pollution*, 103(1): 91-101.
- [12]. Wilson, J.M., and Greaves, J.A. (1993). Development of fluorescence-based screening programs for temperature and water stress in crop plants. *Adaptation of Food Crop to Temperature and Water Stress: proceedings of an international symposium, Taiwan, 13-18 August 1992*, pp: 389-398.
- [13]. Mohammad, J., Naziri, M.A., Shah, D., and Jamal, H. (1996). Wheat yield component as affected by low water stress at different growth stage. *Sarhad Journal of Agriculture*, 12: 19-26.
- [14]. Mamnoei, E., and Seyed Sharifi, R. (2010). Study the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield. *Journal of Plant Biology*, 2(5): 51-62.
- [15]. Guan, B.H., Ge, Y., Fan, M.Y., Niu, X.Y., Lu, Y.J., and Shang, J. (2003). Phenotypic plasticity of growth and morphology in *Mosla chinensis* responds to diverse relative soil water content. *Acta Ecologica Sinica*, 23(2): 259-263.
- [16]. Elsheery, N.I., and Cao, K.F. (2008). Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(6): 769-777.
- [17]. Heuer, B. (1994). Osmoregulatory role of proline in water and salt stressed plants, *Handbook of Plant and Crop Stress*, Marcel Dekker publication, New York.
- [18]. Girousse, C., Bournoville, R., and Bonnemain, J.L. (1996). Water deficit-induced changes in concentration in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa. *Plant Physiology*, 111(1): 109-113.
- [19]. Kuznetsov, V.V., and Shevyakova, N.I. (1999). Proline under stress: Biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46(2): 274-287.

## Physiological responses of *Robinia pseudoacacia* seedlings to drought stress

**F. Kordrostami**; Ph.D. Student, Department of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. Iran.

**A. Shirvany**; Assist. Prof., Department of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. Iran.

**P. Attarod\***; Assoc. Prof., Department of Forestry and Forest Economics, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. Iran.

**M. Khoshnevis**; Senior researcher, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran

(Received: 30 April 2014, Accepted: 17 May 2016)

### ABSTRACT

Physiological response of different species to drought stress can help to recognize the effective mechanisms in drought stress and choose the best species for planting in dry lands of Iran. This study investigated the physiological mechanisms of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings in draught conditions. An experiment was carried out in a completely randomized block with one treatment (irrigation) at five levels (1, 3, 5, 7, and 9 -day intervals) with five replicates in one-year-old seedlings of *Robinia pseudoacacia* L. The effects of drought stress, chlorophyll fluorescence parameters ( $F_v/F_m$ ,  $F_m$  &  $F_0$ ), pigments concentrate (total chlorophyle, chlorophyle 'a' and 'b'), and proline content of leaves were measured with sampling from leaves of mentioned treatments. Drought stress caused a significant reduction in maximum photochemical efficiency of photosystem II ( $F_v/F_m$ ), maximum fluorescence ( $F_m$ ) and minimum fluorescence ( $F_0$ ) ( $p < 0.05$ ). The chlorophyll content was not significantly affected by drought between watering regimes. With increasing the intensity of drought, proline accumulation in leaves was increased from 9.82 in 1day treatment to 77.40 ( $\mu\text{mol/gfw}$ ) in the 9-day irrigation treatment. Measuring the chlorophyll fluorescence parameters and proline content would be useful as a degree of drought tolerance indicator for selecting the adapted species to arid and semiarid regions.

**Keywords:** Drought stress, Chlorophyll fluorescence, Proline, *Robinia pseudoacacia*.

---

\* Corresponding Author, Email: attarod@ut.ac.ir, Tel/fax: + 98 (26) 32249312