

واکنش فتوسنتزی دو گونه سپیدار (*Populus alba* L.) و شالک (*Populus nigra* L.) نسبت به افزایش سرب در محیط کشت آبی

الهام اعتمادی^۱، پیام فیاض^{۲*} و رقیه ذوالفقاری^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

آستادیار گروه جنگلداری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۲۰ / ۳ / ۹۱، تاریخ پذیرش: ۵ / ۶ / ۹۱)

چکیده

در این پژوهش تأثیر سرب در محیط کشت آبی بر تبادلات گازی برگ دو گونه شالک و سپیدار، به همراه برخی دیگر از شاخص‌های فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب، بیشینه هدایت الکتریکی و نرخ نشت الکترولیتی اندام‌ها و عملکرد فتوسیستم ۲ بررسی شد. نهال‌های یکساله دو گونه صنوبر در محیط کشت آبی تحت تیمار سرب ($PbCl_2$) با غلظت‌های ۱۵، ۴۵ و ۹۰ بخش در میلیون و به صورت کلاته شده قرار گرفتند و شش هفته پس از استقرار در غلظت هدف برداشت شدند. نتایج نشان داد که حداکثر هدایت الکتریکی در برگ هر دو گونه در تیمار شدید (۹۰ بخش در میلیون) افزایش یافت، اما تنها در گونه شالک افزایش غلظت سرب در تیمار شدید با افزایش نرخ نشت الکترولیتی همراه بود. محتوای نسبی آب اندام‌ها در هر دو گونه ثابت ماند، در حالی که افزایش سرب در تیمار شدید تنها موجب کاهش هدایت روزه‌ای در گونه سپیدار شد. هر دو گونه قادر به حفظ عملکرد فتوسیستم ۲ در طول تنش بودند، اما نرخ خالص فتوسنتز در گونه سپیدار کاهش یافت. محدودیت فتوسنتزی در هر دو گونه با توجه به کاهش کارایی مصرف آب داخلی (A/g_s) مشاهده شد که در گونه سپیدار اغلب از نوع محدودیت روزه‌ای و در شالک از نوع محدودیت‌های غیرروزه‌ای بود. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که در نهال‌های شالک، افزایش سرب به تخریب غشای سیتوپلاسمی و آنزیم‌های مؤثر در تثبیت کربن و در نتیجه حفظ هدایت روزه‌ای و تعرق منجر می‌شود. در مقابل بروز محدودیت‌های روزه‌ای در نهال‌های سپیدار از آسیب‌های فیزیولوژیکی ناشی از ورود سرب به اندام‌های آن جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: سرب، صنوبر، تبادلات گازی برگ، کلاته‌کننده، آسیب غشایی.

مقدمه و هدف

الگوی فعالیت‌های صنعتی امروزی بشر، به توسعه آلودگی‌های محیط زیستی، به‌ویژه آلودگی با فلزات سنگین منجر می‌شود (Chehregani & Malayeri, 2007). فلزات سنگین گروه مهمی از آلوده‌کننده‌های معدنی هستند که در بسیاری از مناطق به‌دلیل استفاده از کودها، حشره‌کش‌ها، سوخت‌های فسیلی، کوره‌های زباله‌سوزی، معادن و صنایع فلزی به‌سرعت رو به افزایشند (خداکرمی و همکاران، ۱۳۸۸). برخی از این آلاینده‌ها به‌مدت طولانی در محیط باقی می‌مانند و با تجمع تدریجی در بافت‌ها موجب بروز ناهنجاری‌هایی در سیستم گردش خون، ایمنی و عصبی موجودات می‌شوند (Igwe & Abia, 2007; Gratão *et al.*, 2005). در این میان سرب یکی از فلزات سمی برای انسان و همچنین جزو فلزات غیرضروری برای گیاهان است که عملکرد بیولوژیک شناخته‌شده‌ای ندارد، ولی به‌علت انحلال‌پذیری این عنصر در آب، ممکن است از راه سیستم ریشه جذب گیاهان شود (Kim *et al.*, 2002) و رشد و متابولیسم آنها را تحت تأثیر قرار دهد (Sharma & Dubey, 2004). در گیاهان آثار سمیت با سرب، اغلب در غلظت‌های بیش از ۳۰ ppm در برگ ظاهر می‌شود و به کاهش سنتز کلروفیل و کاهش رشد رویشی می‌انجامد (Ruley *et al.*, 2004) و موجب کاهش رشد و مقدار محصول، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری مانند آهن و کاهش مقدار فتوسنتز می‌شود (Sharma & Dubey, 2005). در کنار آثار تخریبی بسیار زیاد فلزات سنگین، مواردی چون افزایش مقاومت به خشکی (Disante *et al.*, 2011) و شوری (اختیاری و مراقبتی، ۱۳۹۰) در گیاهان تحت تأثیر فلزات سنگین، که اغلب ناشی از کاهش تبخیر روزنه‌ای است، گزارش شده است. با وجود این، سرب بیشتر به تجمع در سطح زمین تمایل دارد و مقدار آن با افزایش عمق خاک کاهش می‌یابد (de Abreu *et al.*, 1998). اتصال محکم و قوی سرب با خاک و همچنین دارا بودن فرم رسوبی و نزدیک به مواد کلئیدی، سبب عدم تحرک این یون در خاک و رسوب آن در دیواره سلولی می‌شود و جذب آن را از طریق ریشه گیاهان کاهش می‌دهد. استفاده از مواد کلاته‌کننده مانند

EDTA^۱، اثر عدم تحرک و جذب سرب در خاک و دیواره سلولی را از بین برده و آن را برای انتقال به اندام هوایی گیاه در دسترس قرار می‌دهد (Jarvis & Leung, 2002). یکی از راه‌های حذف آلاینده‌ها از خاک، گیاه‌پالایی است که در آن آلاینده‌های موجود با استفاده از گیاهان و سایر موجودات اتوتروف حذف می‌شود و به بافت‌های گیاهی انتقال می‌یابد (Robinson *et al.*, 2003).

گونه‌های مختلف جنس صنوبر (*Populus sp.*)، با توجه به توان رشد سریع و تولید زی‌توده زیاد، قابلیت استفاده برای گیاه‌پالایی را دارند (Kiss *et al.*, 2001). این جنس از رده دولپه‌ای‌ها و خانواده بیدیان (Salicaceae) است و گستره طبیعی وسیعی را در نواحی معتدله شمالی به خود اختصاص می‌دهد. دو گونه سپیدار (کبوده) (*P. alba*) و شالک (تبریزی) (*P. nigra*) در مناطق استپی ایران در کنار رودخانه‌ها می‌رویند و رشد کلی به‌ویژه رشد طولی آنها در مناطق نیمه‌خشک و نیمه‌مرطوب در صورت آبیاری رضایت‌بخش است (ثابتی، ۱۳۸۷).

با توجه به اهمیت سرب به‌عنوان یکی از فراوان‌ترین آلاینده‌های محیط زیستی و تأثیر این فلز با ورود به زنجیره غذایی بر سلامت انسان و جانوران، توجه به مسئله آلودگی سرب و واکنش گونه‌های مختلف گیاهی در رویارویی با غلظت‌های گوناگون آن حائز اهمیت است. در این بین، فهم پاسخ‌های فیزیولوژیک درختان تندرشد مانند صنوبر در برابر این آلودگی‌ها به امکان معرفی گونه‌ها یا وارسته‌های مقاوم کمک می‌کند. از این‌رو در این تحقیق واکنش فتوسنتزی دو گونه سپیدار و شالک نسبت به افزایش سرب در محیط کشت آبی بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها

- تهیه نهال و اعمال تیمار

قلمه‌های دو کلون صنوبر ایرانی شامل *P. nigra* و *P. alba* از مرکز تحقیقات کرج تهیه و در اواخر اسفند ۱۳۸۹ در گلدان‌های سه کیلوگرمی پلاستیکی سیاه و منفذدار کاشته شد. در اواخر شهریور، نهال‌ها از خاک شسته شده و به محیط غذایی Long Ashton انتقال داده شد. ۱۰ روز پس

سانتی‌متر ($\mu\text{s}/\text{cm}$) اندازه‌گیری شد. به این منظور، نمونه‌هایی با وزن تقریبی ۰/۵ گرم با استفاده از تیغ تیز جدا شد و پس از آبکشی، در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر در ظروف فالكون در بسته غوطه‌ور شد. پس از ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی محلول ثبت شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت ۱ ساعت جوشانده شدند. پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای اتاق، هدایت الکتریکی بیشینه اندازه‌گیری و سپس نسبت هدایت الکتریکی ۲۴ به بیشینه به‌عنوان شاخص آسیب غشایی محاسبه شد.

- تبادلات گازی و عملکرد فتوسیستم ۲

تبادلات گازی گیاه با استفاده از دستگاه تبادلات گازی مادون قرمز قابل حمل مدل ADC (Bioscientific، انگلستان) در برگ‌های بالایی کاملاً توسعه‌یافته اندازه‌گیری شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها بین ساعت‌های ۱۰ تا ۱۲ صبح در شدت نور ۱۶۰۰ تا ۲۳۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه صورت گرفت. سپس پارامترهای مختلفی به‌طور مستقیم از دستگاه یا به‌صورت غیرمستقیم بر اساس روابط تجربی شامل نرخ فتوسنتز خالص (A)، هدایت روزنه‌ای (g_s)، تعرق (E)، مقاومت روزنه‌ای و لایه‌های مرزی (I_a+I_s)، کارایی مصرف آب (WUE)، تراکم دی‌اکسید کربن محیطی (ca)، تراکم دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Ci، نسبت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای به محیطی (C_i/C_a)، هدایت مزوفیلی (A/C_i)، کارایی مزوفیل^۱ (کاهش نرخ C_i/g_s) و کارایی مصرف آب برگ^۲ (A/g_s) تعیین شد. عملکرد فتوسیستم ۲ با بررسی فلورسانس کلروفیل a در برگ‌های فوقانی کاملاً توسعه‌یافته با یک دستگاه فلورومتر قابل حمل الفاکندۀ پالس اشباع (Optic-Sciences) OSI-FL، ایالات متحده آمریکا) در شرایط نوری مزرعه‌ای اندازه‌گیری شد.

- تجزیه و تحلیل داده‌ها

این تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار انجام گرفت که در آن تأثیرات ساده غلظت سرب (۱۵، ۴۵ و ۹۰ ppm)، گونه (شالک و

از استقرار در این محیط و در فضای باز (متوسط دمای روزانه ۲۸ درجه سانتی‌گراد و متوسط تابش فعال فتوسنتزی (PAR) ۲۰۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه در ساعت ۱۰ صبح) غلظت تیمار سرب به‌تدریج افزایش یافت و در هفت مرحله (در مدت یک ماه) به غلظت‌های هدف شامل ۱۵، ۴۵ و ۹۰ ppm رسید و به‌مدت شش هفته دیگر در غلظت هدف باقی ماند. افزایش تدریجی غلظت سرب به‌دلیل احتراز از آثار فیزیولوژیکی ناشی از شوک بود. به‌منظور جلوگیری از رسوب سرب در محلول غذایی، در دو هفته اول از محلول غذایی رقیق‌شده و در چهار هفته نهایی از EDTA به‌عنوان کلاته‌کننده فلزی استفاده شد. در نهایت پس از گذشت شش هفته و ثبت پارامترهای فیزیولوژیکی، برداشت اندام‌های مختلف (ریشه، ساقه و برگ) نهال‌ها صورت گرفت.

- پارامترهای مورد اندازه‌گیری

- محتوای نسبی آب

محتوای نسبی آب برگ، ساقه و ریشه با نمونه‌گیری از این اندام‌ها در زمان برداشت به‌دست آمد. نمونه برگ از میان برگ‌های بالغ، نمونه ساقه از قسمت پایینی ساقه و نمونه ریشه از میان ریشه نازک انتخاب شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در آب مقطر غوطه‌ور شدند و پس از خشک کردن با دستمال کاغذی، وزن اشباع آنها اندازه‌گیری شد. پس از قرار دادن آنها در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک نمونه‌ها تعیین شد. محتوای نسبی آب اندام‌های مختلف با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad ۱$$

که در آن، RWC، محتوای نسبی آب؛ FW، وزن تر؛ DW، وزن خشک و TW، وزن اشباع است.

- نرخ نشت الکترولیت

مقدار نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های مختلف به‌عنوان شاخصی برای آسیب غشای سیتوپلاسمی با استفاده از یک دستگاه هدایت‌سنج (EC متر) با دقت میکروزیمنس بر

1- Mesophyll Efficiency

2- Leaf intrinsic Water Use Efficiency (PWUE)

کاهش یافت، اما در گونه *P. nigra* کاهش معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱، شکل ۱-ب). این در حالی است که نرخ تثبیت کربن با ثابت در نظر گرفتن تراکم دی‌اکسید کربن زیر روزه‌ای (C_i) (هدایت مزوفیلی) در هر دو گونه، یک روند را نشان داد، به طوری که مقدار آن در هر دو گونه، در مقادیر زیاد سرب به شدت کاهش یافت (شکل ۱-ز). مقادیر متوسط سرب تأثیر معنی‌داری بر کارایی مصرف آب (WUE) (شکل ۱-ی)، کارایی مصرف آب برگ (A/g_s) (شکل ۱-ه) و هدایت مزوفیلی (A/C_i) (شکل ۱-ز) در هیچ یک از گونه‌ها نداشت، ولی دیگر شاخص‌های فتوسنتزی در دو گونه مختلف به طور متفاوت تحت تأثیر قرار گرفتند. به نحوی که در گونه *P. alba* افزایش مقدار سرب تا ۴۵ ppm موجب افزایش مقاومت لایه‌های مرزی (r_a+r_s)، کاهش کارایی مزوفیل (افزایش نرخ C_i/g_s)، هدایت روزه‌ای (g_s)، نرخ خالص فتوسنتز (A) و تبخیر و تعرق (E) شد ولی در گونه *P. nigra* مقادیر متوسط سرب، به افزایش هدایت روزه‌ای (g_s) و کاهش مقاومت لایه‌های مرزی (r_a+r_s) انجامید. در تیمار شدید (۹۰ ppm) کاهش نرخ خالص فتوسنتز در گونه *P. alba* با کاهش تبخیر و تعرق و هدایت روزه‌ای و افزایش مقاومت لایه‌های مرزی همراه بود، در حالی که در گونه *P. nigra* هدایت روزه‌ای و مقاومت لایه‌های مرزی با افزایش سرب تا ۹۰ ppm، کاهش یافت و به مقدار اولیه خود بازگشت (شکل ۱). بررسی مقدار تنفس در تاریکی (R) دو گونه در غلظت‌های مختلف سرب نشان داد که افزایش غلظت سرب تا ۹۰ ppm تأثیر معنی‌داری بر نرخ تنفس در تاریکی دو گونه نداشت (جدول ۱). کارایی مصرف آب نیز در هر دو گونه در مقادیر زیاد سرب کاهش یافت. عملکرد فتوسیستم ۲ به طور کلی در گونه *P. nigra* بیشتر از گونه *P. alba* بود، ولی افزایش غلظت سرب تا ۹۰ ppm در محلول غذایی، طی مدت تحقیق، عملکرد فتوسیستم ۲ را در هیچ یک از گونه‌ها تحت تأثیر قرار نداد (جدول ۱).

سپیدار) و اندام (ریشه، ساقه و برگ) به همراه تأثیرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آنها بر صفات مختلف فیزیولوژیکی آزمایش شد. قبل از آنالیز واریانس، داده‌های پرت بالقوه با استفاده از باکس پلات و نرمال بودن پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف با ضریب تصحیح لیلیفورس بررسی شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده، هیچ تبدیل داده‌ای صورت نگرفت. در صورت معنی‌دار بودن تأثیر تیمارها، میانگین‌ها با استفاده از آزمون مقایسه میانگین چندگانه دانکن گروه‌بندی شد. همه قضاوت‌های آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 انجام گرفت.

نتایج

- محتوای نسبی آب

نتایج آنالیز واریانس بیانگر اثر معنی‌دار گونه و اندام بر محتوای نسبی آب بافت بود، به نحوی که محتوای نسبی آب در شالک بیشتر از سپیدار و محتوای نسبی آب ریشه بیشتر از دیگر اندام‌ها بود. سطوح مختلف سرب، تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب اندام‌های مختلف دو گونه نداشت (جدول ۱).

- نرخ نشت الکترولیت‌ها

نتیجه آنالیز واریانس نرخ نشت الکترولیت در گونه‌ها، اندام‌ها و غلظت‌های مختلف سرب نشان داد که اثر متقابلی بین تیمار و نوع گونه و همچنین اندام و نوع گونه وجود دارد (جدول ۱)، به طوری که در گونه *P. alba* مقدار هدایت الکتریکی با افزایش تیمار سرب تغییر نکرد، ولی در گونه *P. nigra* نرخ نشت الکترولیت‌ها در تیمار ۹۰ ppm به شدت افزایش یافت (شکل ۱-ک).

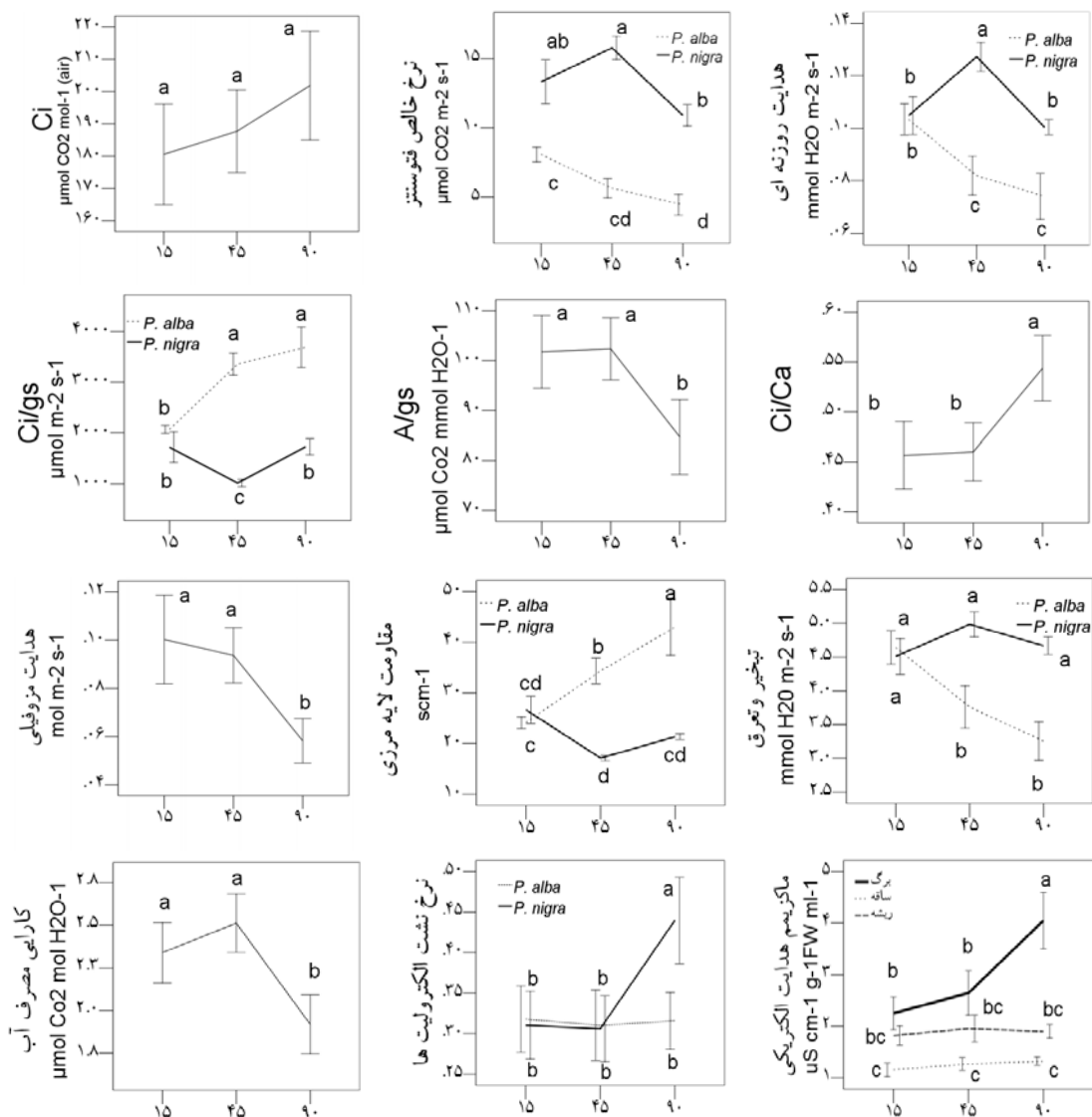
- تبادلات گازی برگ و عملکرد فتوسیستم ۲

بر اساس نتایج آنالیز واریانس تأثیر تیمارهای مختلف سرب بر تبادلات گازی برگ در نهال‌های دو گونه، نرخ خالص فتوسنتز در گونه *P. alba* با افزایش غلظت سرب

جدول ۱- مقادیر F حاصل از آنالیز واریانس تأثیرات ساده گونه (شالک و سپیدار)، اندام (ریشه، ساقه و برگ) و تیمار (۱۵، ۴۵ و ۹۰ ppm سرب) به همراه تأثیرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آنها بر صفات فیزیولوژیکی مختلف مورد بررسی

صفت	گونه	اندام	تیمار	گونه×اندام	گونه×تیمار	اندام×تیمار	گونه×اندام×تیمار
محتوای نسبی آب	۱۲/۵۰**	۱۰/۰***	۰/۷۶ ^{n.s.}	۰/۸۳ ^{n.s.}	۲/۹۸ ^{n.s.}	۰/۹۴ ^{n.s.}	۱/۰۷ ^{n.s.}
ماکزیمم هدایت الکتریکی	۳/۴ ^{n.s.}	۳۱***	۴/۸۵*	۴/۵۸*	۰/۸۶ ^{n.s.}	۳/۴۶*	۰/۹۶ ^{n.s.}
نرخ نشت الکترولیت	۴/۲۸*	۱۶۸***	۴/۲۱*	۷/۳۲**	۵/۶۴**	۰/۴۲ ^{n.s.}	۲/۳۴ ^{n.s.}
نرخ خالص فتوسنتز (A)	۸۷/۸***	۶/۶۶**	۴/۴۴*	۳/۶۷*	۵/۶۶**	۱/۴۵ ^{n.s.}	۳/۶۶*
هدایت روزنه ای (g _s)	۲۰/۶***	۳/۹۵*	۴/۴۴*	۳/۹۵*	۵/۶۶**	۱/۴۵ ^{n.s.}	۳/۶۶*
هدایت مزوفیلی (A/Ci)	۵۶/۳***	۴/۴۹*	۳/۹۵*	۳/۹۵*	۵/۶۶**	۱/۴۵ ^{n.s.}	۳/۶۶*
مقاومت لایه مرزی (r _a +r _s)	۳۵/۶***	۱/۸۸*	۴/۴۹*	۱/۸۸*	۵/۱۷**	۱۳/۱***	۴/۴۹*
تبخیر و تعرق (E)	۱۴/۵***	۴/۵*	۱/۸۸*	۱/۸۸*	۵/۱۷**	۱۳/۱***	۴/۴۹*
کارایی مصرف آب (WUE)	۵۲***	۰/۴ ^{n.s.}	۴/۵*	۰/۴ ^{n.s.}	۲/۲۷ ^{n.s.}	۰/۸۱ ^{n.s.}	۲/۲۷ ^{n.s.}
تنفس در تاریکی (R)	۱/۵۸ ^{n.s.}	۳/۸۶*	۰/۴ ^{n.s.}	۰/۴ ^{n.s.}	۰/۸۱ ^{n.s.}	۱/۷۶ ^{n.s.}	۰/۸۱ ^{n.s.}
Ci/Ca	۵۲/۱***	۶/۸۳**	۳/۸۶*	۳/۸۶*	۱/۷۶ ^{n.s.}	۲۱/۱***	۳/۸۶*
کارایی مزوفیل (کاهش Ci/g _s)	۷۵/۸***	۳/۴۵*	۶/۸۳**	۶/۸۳**	۲۱/۱***	۲/۱۹ ^{n.s.}	۶/۸۳**
کارایی مصرف آب برگ (A/g _s)	۵۰/۱***	۱۷/۳ ^{n.s.}	۳/۴۵*	۳/۴۵*	۲/۱۹ ^{n.s.}	۲/۱۹ ^{n.s.}	۳/۴۵*
عملکرد فتوسنتز	۷/۲۳*	۱۷/۳ ^{n.s.}	۱۷/۳ ^{n.s.}	۱۷/۳ ^{n.s.}	۱/۰۲ ^{n.s.}	۱/۰۲ ^{n.s.}	۱۷/۳ ^{n.s.}

***، ** و * معنی داری مقادیر F به ترتیب در سطوح اطمینان ۹۵، ۹۹ و ۹۹/۹ درصد و ns: عدم معنی داری



شکل ۱- پاسخ‌های فیزیولوژیکی (تبادلات گازی و نشت الکترولیتی) دو گونه شالک (*P. nigra*) و سپیدار (*P. alba*) شش هفته پس از استقرار در غلظت‌های مختلف سرب در محیط کشت آبی (۱۵، ۴۵ و ۹۰ ppm). در هر نمودار میانگین ± یک اشتباه معیار نشان داده شده است. حروف لاتین مشابه، نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن تفاوت میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است (شش تکرار در هر سطح).

بحث

می‌رسد که این پدیده در اندام‌های مختلف دو گونه سپیدار و شالک به دلیل نبود محدودیت ریشه‌ای در جذب آب، ناشی از افزایش غلظت سرب در محلول غذایی باشد. جذب سرب در اندام‌های مختلف، موجب افزایش هدایت الکتریکی اندام مورد نظر می‌شود. از این رو افزایش هدایت الکتریکی اندام‌ها ممکن است نشان‌دهنده برهم‌خوردن توازن الکترولیت‌ها در سلول ناشی از ورود یون‌های سرب باشد. نتایج این تحقیق حاکی از عدم تغییر هدایت الکتریکی بیشینه در اندام‌های ریشه و ساقه و افزایش شدید آن در برگ‌های هر دو گونه است. در نتیجه به نظر می‌رسد که یون‌های سرب به کمک جریان تبخیر گیاه وارد برگ‌ها شدند و در آنجا تجمع کردند. در هر صورت، برای اطمینان از این مسئله، تحقیقات بیشتری در زمینه اندازه‌گیری غلظت عناصر در اندام‌های مختلف ضروری به نظر می‌رسد. از جمله پیامدهای منفی ورود سرب به گیاه، تخریب غشای سیتوپلاسمی است که با اندازه‌گیری نرخ نشت الکترولیت‌ها می‌توان برآوردی از مقدار آسیب سیتوپلاسمی به دست آورد. سرب با غیرفعال کردن آنزیم‌های غشایی (Adam *et al.*, 2006)، تخریب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تخریب چربی‌های غشای سلولی، سبب افزایش آسیب غشایی در گیاه می‌شود (Stefanov *et al.*, 1992; 1993; 1995). مقدار نرخ نشت الکترولیت‌ها در گونه شالک در غلظت ۹۰ ppm به شدت افزایش یافت، در حالی که نرخ نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های گونه سپیدار با افزایش غلظت سرب تا ۹۰ ppm ثابت ماند. افزایش نرخ نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های مختلف گیاهان تحت تنش فلزات سنگین در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است (Sayed, 1999; Sánchez-Viveros *et al.*, 2010; Xiong & Wang, 2007; Gonçalves *et al.*, 2005). با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد در مجموع راهکارهای گونه سپیدار در برابر افزایش سرب در محیط کشت به حفاظت اندام‌های این گونه در برابر آسیب غشایی منجر شده است، در حالی که در گونه شالک، وجود سرب در محیط کشت به تخریب غشای سیتوپلاسمی در کلیه اندام‌ها انجامیده است. ورود فلزات سنگین به برگ ممکن است به بروز تغییرات آناتومیکی (کاهش نسبت سطح مزوفیل به سطح برگ،

گونه‌ها و زیرگونه‌های مختلف گیاهی از توانایی‌های متفاوتی در مواجهه با تنش‌های محیطی مانند فلزات سنگین برخوردارند (Yerkes & Weller, 1996). در برخی تحقیقات نشان داده شد که سرب در غلظت‌های کم با تحریک سنتز پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی، موجب تحریک رشد گیاه می‌شود و با افزایش غلظت سرب، مقدار زی توده گیاهان به دلیل کاهش رشد کاهش می‌یابد (Wierzbicka, 1998). همچنین در منابع مختلف با افزایش سرب تأثیرات متفاوتی بر محتوای نسبی آب گیاهان گزارش شده است. در برخی تحقیقات، افزایش غلظت سرب در محیط کشت، موجب کاهش محتوای نسبی آب می‌شود (Akinci *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 1997; Vassilev *et al.*, 1997; Sayed, 1999). که این کاهش، اغلب ناشی از محدودیت رشد ریشه، کاهش جذب آب از ریشه، کاهش هدایت هیدرولیکی (Marchiol *et al.*, 1995) و کاهش آب در دسترس گیاه است. از طرفی ورود سرب به گیاه، موجب کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش تعرق ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌شود که این پدیده ممکن است به عدم کاهش محتوای نسبی آب در شرایط تحت تنش منجر شود (بلادی و همکاران، ۱۳۸۹). مسیرهایی را که تحت تأثیر فلزات سنگین موجب کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود، می‌توان به دو دسته مسیره‌های غیرمستقیم، مانند افزایش محتوای اسید آسبزیک (Iqbal & Mushtagh, 1987)، افزایش سیتوکینین (Poschenrieder *et al.*, 1988) و کاهش جذب پتاسیم (Vaillant *et al.*, 2005)، و مسیره‌های مستقیم مانند مسدود کردن کانال‌های آبی سلول‌های روزنه (Yang *et al.*, 2004) تقسیم کرد. همچنین در مواردی افزایش فلزات سنگین به همراه برخی تنش‌ها مانند خشکی، موجب افزایش محتوای نسبی آب می‌شود (Disante *et al.*, 2011). در تحقیق حاضر، افزایش سرب تا ۹۰ ppm، محتوای نسبی آب اندام‌ها را در هیچ یک از گونه‌ها تحت تأثیر قرار نداد. عدم تغییر محتوای نسبی آب تحت تنش‌های فلزات سنگین در برخی گونه‌های درختی نظیر بلوط (Disante *et al.*, 2011) و نیز گیاهان علفی (بلادی و همکاران، ۱۳۸۹) گزارش شده است. به نظر

نشان‌دهنده اثر تحریکی غلظت اندک سرب بر گیاهان است که در بسیاری از تحقیقات گزارش شده است (Velikova *et al.*, 2011)، ولی این اثر تحریکی سرب در تیمار شدید از بین رفت و نرخ خالص فتوسنتز دوباره کاهش یافت و به حالت اولیه خود بازگشت. جمع‌بندی جامع در مورد دلایل کاهش هدایت مزوفیلی دو گونه سپیدار و شالک با در اختیار داشتن نتایج حاضر کمی مشکل است. کاهش هدایت مزوفیلی در گونه سپیدار ممکن است به دلیل محدودیت‌های آناتومیکی برگ، تخریب عملکرد آنزیم‌های مؤثر در جذب بیوشیمیایی CO_2 در سطح مزوفیل نظیر تخریب پروئین‌های کانال آبی (Terashima & Ono, 2002) و کربنیک آنهیدراز، افزایش مقاومت لایه‌های مرزی یا کاهش فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو باشد که در نهایت به افزایش CO_2 زیر روزه‌ای منجر می‌شود. اما در گونه شالک کاهش هدایت مزوفیلی با افزایش CO_2 زیر روزه‌ای همراه نبود. بنابراین به نظر می‌رسد که با توجه به ثابت ماندن هدایت روزه‌ای در شالک در سطوح مختلف سرب، کاهش هدایت مزوفیلی در این گونه، بیشتر با تخریب آنزیم‌های مؤثر در تثبیت کربن نظیر روبیسکو مرتبط باشد. از طرفی افزایش مقاومت روزه‌ای در سپیدار، موجب افزایش مقاومت لایه‌های مرزی برگ در برابر خروج انرژی گرمایی برگ و افزایش دمای برگ می‌شود که این حالت، خود ممکن است موجب تخریب برخی فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه در طولانی‌مدت شود. در گیاهان عالی، سرب به علت برجا گذاشتن آثار منفی بر عملکرد فتوسیستم ۲ از طریق تحت تأثیر قرار دادن پلاستوکوئینون‌های غشای تیلاکوئیدی، سبب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود. به‌طور کلی سرب با تأثیر بر دهنده‌ها و گیرنده‌های فتوسیستم ۲ و مجموعه سیتوکروم b/f و فتوسیستم ۱ و زنجیره انتقال الکترون موجب کاهش عملکرد آنها می‌شود (Mohanty *et al.*, 1989; Šeršeň *et al.*, 1998; Miles *et al.*, 1972). در بعضی موارد نیز اثر این یون بر عملکرد فتوسیستم نامحسوس است (Sárvári *et al.*, 2002) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که افزایش شدید هدایت الکتریکی در برگ هر دو گونه در اثر افزایش سرب در

کاهش سطح تماس کلروپلاست‌ها با غشای مزوفیل، کاهش تخلخل برگ) و بیوشیمیایی متنوعی منجر شود. سرب می‌تواند با ایجاد تغییرات روزه‌ای و غیرروزه‌ای، فتوسنتز را مختل کند. گذشته از تغییرات روزه‌ای ناشی از فلزات سنگین که پیشتر در مورد آنها بحث شد، بخش مهمی از اختلالات فتوسنتزی ناشی از ورود فلزات سنگین به برگ، مربوط به تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌هاست که ممکن است با اتصال مستقیم فلزات سنگین از جمله سرب با گروه تیول آنزیم‌ها ایجاد شود. از جمله این موارد می‌توان به تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌های مؤثر در انتشار و تثبیت CO_2 نظیر پروتئین‌های کانال آبی (Terashima & Ono, 2002)، کربنیک آنهیدراز (Vitale *et al.*, 1999) و روبیسکو (Van Assche & Clijsters, 1990) اشاره کرد.

در این تحقیق افزایش سرب موجب بروز محدودیت فتوسنتزی در هر دو گونه سپیدار و شالک شد، اما با توجه به کاهش کارایی مصرف آب داخلی برگ (A/g_s) در هر دو گونه در غلظت شدید سرب و نیز روند متفاوت تغییر هدایت روزه‌ای در دو گونه سپیدار و شالک با افزایش سرب می‌توان نتیجه گرفت که نوع محدودیت فتوسنتزی به‌وجودآمده در دو گونه متفاوت است. این محدودیت به‌نحوی است که در گونه سپیدار، هر دو عامل، روزه‌ای و غیرروزه‌ای و در گونه شالک اغلب از نوع محدودیت غیرروزه‌ای بود. از آنجا که با افزایش غلظت سرب، هدایت روزه‌ای گونه سپیدار نسبت به گونه شالک کاهش یافت و با توجه به ارتباط مثبت بین هدایت روزه‌ای و فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو (Beadle & Jarvis, 1977; Hedrano *et al.*, 2002)، به نظر می‌رسد در شرایط تنش، فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو در گونه سپیدار کمتر از گونه شالک باشد، اما در گونه شالک، با وجود محدودیت مزوفیلی (کاهش A/C_i) و کاهش کارایی مصرف آب داخلی برگ (کاهش A/g_s) نسبت CO_2 زیر روزه‌ای به هدایت روزه‌ای (C_i/g_s) همچنان ثابت ماند. این امر احتمالاً به دلیل عدم تغییر در نفوذپذیری CO_2 به درون مزوفیل در سطوح اولیه است. همچنین در تیمار متوسط سرب در گونه *P. nigra* مقدار نرخ خالص فتوسنتز به دلیل افزایش هدایت روزه‌ای و کاهش مقاومت لایه مرزی افزایش یافت که

بلادی، مهتاب، داوود حبیبی، علی کاشانی، فرزاد پاک‌نژاد و محیا گلشن، ۱۳۸۹. بررسی اثر سرب و مس بر محتوای کلروفیل، غشای لیپیدی، محتوی آب نسبی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گونه گیاهی خلر، فصلنامه اکوفیزیولوژیکی گیاهان زراعی، ۲(۲): ۳۸-۴۷.

ثابتی، حبیب‌الله، ۱۳۸۷. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات دانشگاه یزد، شماره انتشار ۱۵۶۷، ۸۰۶ ص. خداکرمی، یحیی، انوشیروان شیروانی، قوام‌الدین زاهدی امیری، محمد متینی‌زاده و هوشمند صفری، ۱۳۸۸. مقایسه مقدار جذب فلز سرب در اندام‌های مختلف (ریشه، ساقه و برگ) نهال‌های یکساله دو گونه بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) و بنه (*Pistacia atlantica*) به‌روش محلول پاشی، مجله جنگل ایران، ۱(۴): ۳۲۰-۳۱۳.

Adam, T., R. Nilesh, C. Sharma, S.V. Sahi, S.R. Singh & K.S. Sajwan, 2006. Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil, *Environmental Pollution*, 144: 11-18.

Akinci, I.E., S. Akinci & K. Yilmaz, 2010. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to lead toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll and water content, *African Journal of Agricultural Research*, 5(6): 416-423.

Beadle, C.L. & P.G. Jarvis, 1977. Effects of shoot water status on some photosynthetic partial processes in *Sitka spruce*, *Physiologia Plantarum*, 41: 7-13.

Chehregani, A. & B. Malayeri, 2007. Removal of heavy metals by native accumulator plants, *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(3): 462-465.

de Abreu, C.A., M.F. de Abreu & J.C. de Andrade, 1998. Distribution of lead in the soil profile evaluated by DTPA and Mehlich-3 solutions, *Bragantia*, 57: 185-192.

Disante, K., D. Fuentes & J. Cortina, 2011. Response to drought of Zn-stressed *Quercus suber* L. seedlings, *Environmental and Experimental Botany*, 70: 96-103.

Gonçalves, J., A. Becker, D. Cargnelutti, L. Tabaldi, L. Pereira, V. Battisti, R. Spanevello, V. Morsch, F. Nicoloso & M. Schetinger, 2007. Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedlings, *Journal of Plant Physiology*, 19(3): 223-232.

محیط‌کشت ممکن است ناشی از ورود سرب به بافت برگ در هر دو گونه باشد. دو گونه *P. nigra* و *P. alba* پاسخ‌های متفاوتی در برابر افزایش غلظت سرب از خود بروز دادند. در تیمار شدید سرب (۹۰ ppm)، نرخ فتوسنتز خالص در گونه سپیدار بیشتر به دلیل محدودیت روزنه‌ای کاهش یافت، در حالی که در گونه شالک کاهش معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین عملکرد فتوسیستم ۲ در روش‌سنایی در هر دو گونه با افزایش غلظت سرب ثابت ماند. با این حال، کارایی مصرف آب داخلی برگ (iWUE یا A/gS) در هر دو گونه سپیدار و شالک به دلیل کاهش هدایت مزوفیلی کاهش یافت. از طرفی به نظر می‌رسد که کاهش هدایت مزوفیلی دو گونه دلایل متفاوتی داشته باشد، به طوری که در گونه سپیدار این امر بیشتر تحت تأثیر افزایش مقاومت لایه‌های مرزی و کاهش فعالیت کربوکسیلازی روبیسکو است. با وجود افزایش مقاومت روزنه‌ای و لایه‌های مرزی در گونه سپیدار، بافت برگ این گونه نسبت به گونه شالک از سلامت بیشتری برخوردار بود. این امر ممکن است نشانه‌ای از وجود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مؤثرتر در گونه سپیدار باشد. افزایش غلظت سرب تا مقدار ۹۰ ppm در محیط کشت آبی به تخریب غشای سیتوپلاسمی بافت‌های مختلف گونه شالک منجر شد، در حالی که گونه سپیدار قادر به حفظ سلامت غشای سلولی بافت‌های خود بود. در مجموع گونه سپیدار با بهره‌گیری از سازوکار اجتناب و بروز محدودیت‌های روزنه‌ای، نسبت به گونه شالک، مقاومت بیشتری در برابر آلودگی سربی در غلظت و زمان معین از خود نشان داد. در حالی که گونه شالک با حفظ هدایت روزنه‌ای و ادامه تبخیر و تعرق شرایط را برای جذب بیشتر سرب در اندام‌های خود فراهم کرد که در نهایت به بروز آسیب‌هایی نظیر آسیب غشای سیتوپلاسمی و تخریب آنزیم‌های موثر در تثبیت کربن نظیر روبیسکو منجر شد.

منابع

اختیاری، رضا و فرهنگ مراقبتی، ۱۳۹۰. بررسی اثرات ذرات نانو نقره بر تحمل به شوری گیاه زیره سبز در مراحل جوانه‌زنی در شرایط آزمایشگاهی *Cuminum cyminum* L. گیاه و زیست‌بوم، ۷(۲۵): ۹۹-۱۰۷.

- Hedrano, H., J.M. Escalona, J. Bota, J. Gulias & J. Flexas, 2002. Regulation of photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter, *Annals of Botany*, 89: 895-905.
- Igwe, J.C. & A.A. Abia, 2007. Equilibrium sorption isotherm studies of Cd(II), Pb(II) and Zn(II) ions detoxification from waste water using unmodified and EDTA-modified maize Husk, *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(4): 536-548.
- Iqbal, J. & S. Mushtaq, 1987. Effect of lead on germination, early seedling growth, soluble protein and acid phosphatase content in *Zea mays*, *Pakistan Journal of Science and Industrial Research*, 30: 853-856.
- Jarvis, M.D. & D.W.M. Leung, 2002. Chelated lead transport in *Pinus radiata*: an ultrastructural study, *Environmental and Experimental Botany*, 48: 21-32.
- Kim, Y.Y., Y. Yang & Y. Lee, 2002. Pb and Cd uptake in rice roots, *Plant Physiology*, 116: 368-372.
- Kiss, J., M. Kondrak, O. Torjék, E. Kiss, G. Gyulai, K. Mazik & L. Heszky, 2001. Morphological and RAPD analysis of poplar trees of anther culture origin, *Euphytica*, 118: 213-221.
- Liu, D., T.Q. Li, X.E. Yang, E. Islam, X.F. Jin & Q. Mahmood, 2007. Effect of Pb on leaf antioxidant enzyme activities and ultrastructure of the two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance, *Journal of Plant Physiology*, 55(1): 68-76.
- Marchiol, L., L. Leita, M. Peressotti & G. Zebri, 1995. Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium, *Physiologia Plantarum*, 25(3): 562-566.
- Miles, C.D., J.R. Brandle, D.J. Daniel, O. Chuder, P.D. Schnare & D.J. Uhlik, 1972. Inhibition of photosystem II in isolated chloroplasts by lead, *Plant Physiology*, 49: 820-825.
- Mohanty, N., I. Vass & S. Demeter, 1989. Copper toxicity affects photosystem II electron transport at the secondary quinone acceptor, Q_B, *Plant Physiology*, 90: 175-179.
- Poschenrieder, C., B. Gunes & J. Barceló, 1988. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves, *Plant Physiology*, 90(4): 1365-1371.
- Gratão, P.L., A. Polle, P.J. Lea & R.A. Azevedo, 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier, *Functional Plant Biology*, 32(6): 481-494.
- Robinson, B.H., S.R. Green & T., Mills, 2003. Assessment of phytoremediation as best management practice for degraded environment, In: Currie L.D., R. Stewart, C.W.N. Andreson (eds) Environmental management using soil-plant-system. Fertilizer and Lime Research Center, Massey University, Palmerston North, Occasional Report, 16: 39-49.
- Ruley, A.T., N.C. Shamra & S.V. Sahi, 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plant, *Sesbania drummondii*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(11): 899-906.
- Sánchez-Viveros G., D. González-Mendoza, A. Alarcón & R. Ferrera, 2010. Copper effects on photosynthetic activity and membrane leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana*, *International Journal of Agriculture & Biology*, 12(3): 365-368.
- Sárvári, É., L. Gáspár, F. Fodor, E. Cseh, K. Kröpfl, A. Varga & G. Baron, 2002. Comparison of the effects of Pb treatment on thylakoid development in poplar and cucumber plants, *Acta Biologica Szegediensis*, 46(3-4): 163-165.
- Sayed, A.S., 1999. Effects of lead and kinetin on the growth, and some physiological components of safflower, *Plant Growth Regulation*, 29(3): 167-174.
- Šeršeň, F., K. Král'ová & A. Bumbálová, 1998. Action of mercury on the photosynthetic apparatus chloroplasts, *Photosynthetica*, 35(4): 551-559.
- Sharma, P. & R.S. Dubey, 2004. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes, *Plant Science*, 167(3): 541-550.
- Sharma, P. & R.S. Dubey, 2005. Lead toxicity in plant, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1): 35-52.
- Stefanov, K., I. Popova, B. Nikolova-Damyanova, G. Kimenov & S. Popov, 1992. Lipid and sterol changes in *Phaseolus vulgaris* caused by lead ions, *The International Journal of Plant Biochemistry*, 31(11): 3745-3748.
- Stefanov, K., I. Popova, E. Kamburova, T. Pancheva, G. Kimenov, L. Kuleva & S. Popov, 1993. Lipid and sterol changes in *Zea mays* caused by lead ions, *Phytochemistry*, 33(1): 47-51.
- Stefanov, K., K. Seizova, I. Popova, V. Petkov, G. Kimenov & S. Popov, 1995. Effect of lead ions on the phospholipid composition in leaves of *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris*, *Journal of Plant Physiology*, 147(2): 243-246.
- Terashima, I. & K. Ono, 2002. Effects of HgCl₂ on CO₂ dependence of leaf photosynthesis: evidence indicating involvement of aquaporins in CO₂ diffusion across the plasma membrane. *Plant and Cell Physiology*, 43(1): 70-78.

- Vaillant, N., F. Monnet, A. Hitmi, H. Sallanon & A. Coudret, 2005. Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress, *Chemosphere*, 59(7): 1005-1013.
- Van Assche, F. & H. Clijsters, 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants, *Plant, Cell & Environment*, 13(3): 195-206.
- Vassilev, A., I. Yordanov & T. Tsonev, 1997. Effect of Cd^{2+} on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants, *Photosynthetica*, 34(2): 293-302.
- Velikova, V., T. Tsonev, F. Loreto & M. Centritto, 2011. Changes in photosynthesis, mesophyll conductance to CO_2 , and isoprenoid emissions in *Populus nigra* plants exposed to excess nickel, *Environmental Pollution*, 159(5): 1058-1066.
- Vitale, A.M., J.M. Monserrat, P. Castilho & E.M. Rodriguez, 1999. Inhibitory effects of cadmium on carbonic anhydrase activity and ionic regulation of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Grapsidae), *Comparative Biochemistry and Physiology, Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 122(1): 121-129.
- Wierzbička, M., 1998. Lead in the apoplast of *Allium cepa* L. root tips-ultra structural studies, *Plant Science*, 133: 105-119.
- Xiong, Z.T. & H. Wang, 2005. Copper toxicity and bioaccumulation in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.), *Environmental Toxicology and Water Quality*, 20(2): 188-194.
- Yang, H.M., X.Y. Zhang & G.X. Wang, 2004. Effects of heavy metals on stomatal movements in broad bean leaves, *Russian Journal of Plant Physiology*, 51(4): 464-468.
- Yerkes, C.N.D. & S.C. Weller, 1996. Diluent volume influences susceptibility of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) biotypes to glyphosate, *Weed Technology*, 10(3): 565-569.

Photosynthetic reactions of two species of aspen (*Populus alba* L.) and cottonwood (*Populus nigra* L.) to lead increment in hydroponic medium

E. Etemadi¹, P. Fayyaz^{*2} and R. Zolfaghari²

¹M.Sc. Student, Agriculture Faculty, Yasouj University, I. R. Iran

²Assistant prof., Agriculture Faculty, Yasouj University, I. R. Iran

(Received: 9 Jun 2012, Accepted: 26 August 2012)

Abstract

The effect of lead in hydroponic medium on leaf gas exchanges of two species of aspen and cottonwood, together with some other physiological indices including relative water content, maximum electrolyte conductivity and electrolyte leakage ratio of different organs and efficiency of photosystem II were investigated. One year old saplings of two poplar species were gradually subjected to chelated lead ($PbCl_2$) treatments with concentrations of 15, 45 and 90 part per million in medium and were harvested two weeks after reaching to the final concentration. The results revealed that maximum electrolyte conductivity of leaves in both species increased under severe treatment, but the increment of lead concentration only in cottonwood was accompanied by increment of electrolyte leakage ratio. Relative water content of organs remained constant in both species, whereas increasing lead increment up to 90 ppm diminished stomatal conductance of aspen, and not affected cottonwood. Both species were able to maintain photosystem II efficiency under stress, but net photosynthesis ratio reduced in aspen. The photosynthetic limitations in both species was observed regarding to reduction of intrinsic water use efficiency (A/g_s), that in aspen it was mostly posed by stomatal, and in cottonwood it was due to non stomatal restrictions. It can be concluded that, in cottonwood plants grown in the presence of excess Pb, plasma membrane integrity and efficiency of enzymes are related to carbon fixation which impaired due to maintenance of stomatal conductance and transpiration rate, whereas depletion of stomatal conductance in aspen prevented physiological damages.

Key words: Lead, Poplar, Leaf gas exchanges, Chelatore, Plasma membrane injury.