ارزیابی مقاومت نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* L.) به تنش خشکی با استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل

فرشته کردرستمی[۱]، انوشیروان شیروانی[۲]، پدرام عطارد*[۳] و مصطفی خوشنویس[۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلشناسی و اکولوژی جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
[۲] استادیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
[۳] دانشیار گروه جنگلداری و اقتصاد جنگل، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران
[۴] مربی مؤسسهٔ تحقیقات سازمان جنگل‌ها، مراتع و آبخیزداری کشور

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۱۳)

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکنندهٔ رشد و توسعهٔ گیاهان است، بنابراین یافتن تکنیک‌های نوین برای سنجش مقاومت گیاهان به خشکی با ارزش خواهد بود. این تحقیق با هدف استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل به‌عنوان پارامتری قابل اطمینان برای ارزیابی سریع تنش خشکی در نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* L.) انجام گرفت. بدین منظور، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با یک فاکتور (تیمار آبیاری)، در پنج سطح (۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ روزه) و با پنج تکرار طراحی شد. سپس پارامترهای فلورسانس کلروفیل (F_v/F_m، F_m و F_0)، و محتوای پرولین برگ در نهال‌های یکسالهٔ داغداغان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی، سبب کاهش فلورسانس حداکثر (F_m) شد، به‌طوری‌که کاهش در تیمار نه‌روزه (نه روز بعد از قطع آبیاری) اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد با سایر تیمارها داشت. مشابه این نتایج، حداکثر بازده فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) نیز دارای روند کاهشی بود که این کاهش از تیمار پنج روز به بعد معنی‌دار شد، درحالی‌که فلورسانس حداقل (F_0) به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر خشکی قرار نگرفت. همچنین با افزایش شدت خشکی، تجمع پرولین در برگ از ۱/۷ (میکرومول/گرم وزن تر) در تیمار یک‌روزه به ۷۲/۹۵ در تیمار نه‌روزه افزایش یافت. اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل راهی مطمئن جهت شناسایی گونه‌های گیاهی مقاوم به تنش‌های محیطی با توجه به ویژگی‌های اکولوژیک هر منطقه جهت ایجاد فضای سبز و جنگلکاری می‌باشد.

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

*نویسنده مسئول شماره تماس: ۰۲۶۳۲۲۲۳۰۴۴ ایمیل:attarod@ut.ac.ir

مقدمه و هدف

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کنندهٔ الگوی پراکنش گیاهان در جهان به‌شمار می‌روند و تنش خشکی نیز تعیین‌کنندهٔ بخشی از این پراکنش است (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۷۶). بر اساس مطالعات، از بین عوامل مختلف تنش‌زای زنده و غیرزنده، خشکی به‌تنهایی مسبب ۴۵ درصد کاهش عملکرد گیاهان است. از آنجا که ایران با متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۰ میلی‌متر جزو مناطق خشک و نیمه-خشک محسوب می‌شود (علیزاده، ۱۳۸۸)، هرگونه تحقیق در مورد تنش خشکی باارزش خواهد بود. بشر با انجام تحقیقات زیاد روی انواع گیاهان، بعضی از تأثیرات خشکی بر آنها را شناخته و به‌دنبال انواع سازوکارهای تحمل در گیاهان و همچنین یافتن روش‌هایی برای سنجش تنش بوده تا بتواند با شناخت آنها و چگونگی اثرشان، گامی در جهت حفظ عملکرد گیاهان در شرایط تنش بردارد. برای تحقق این امر، روش‌های زیادی وجود دارد که یا نیازمند صرف دقت و زمان زیاد در آزمایشگاه‌اند و یا تأثیرات مخربی بر گیاه دارند. در این میان، روش‌های نوری در مقایسه با روش‌های شیمیایی و فیزیوشیمیایی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی بافت‌های زنده، مزایای شایان توجهی دارند، زیرا بسیار سریع و غیرمخربند (Berberan_Santos *et al.*, 2008). در حال حاضر مهم‌ترین روش نوری برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان، فلورسانس متری است (Percival and Henderson, 2003).

کاربرد روش فلورسانس کلروفیل در اکوفیزیولوژی و جنگلداری در طی دو دههٔ اخیر به‌شدت افزایش یافته است، که این موضوع به دلیل ویژگی‌های فلورسانس کلروفیل است که می‌تواند کاهش سلامت اولیهٔ گیاه را قبل از آشکار شدن نشانه‌های زوال، شناسایی کند (Percival and Sheriffs, 2002). بنابراین می‌تواند به‌عنوان یک روش سریع، هم در مطالعات آزمایشگاهی و هم مزرعه‌ای برای شناسایی و تعیین تحمل گیاه به تنش‌های محیطی به کار رود (Percival and Henderson, 2003).

بررسی وضعیت فتوسنتز، معیاری قابل اعتماد برای ارزیابی مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی است (Maxwell and Johnson, 2000) و فتوسیستم II فتوسنتزی، حساس‌ترین بخش به تنش است. فلورسانس کلروفیل اطلاعاتی را در مورد وضعیت فتوسیستم II در اختیار ما قرار می‌دهد (Fracheboud, 2006). جریان الکترون در فتوسیستم، شاخصی برای مقدار کلی فتوسنتز است و اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تخمینی از نحوهٔ عمل فتوسنتز را امکان‌پذیر می‌کند (Maxwell and Johnson, 2000). با اعمال تابش فعال فتوسنتزی توسط کابل نوری دستگاه فلورمتر به برگ سازگارشده به تاریکی، اولین پذیرندهٔ الکترون فتوسیستم II (مولکول‌های Q_A) کاملاً اکسید می‌شود و تمام مراکز واکنش فتوسیستم II باز اند. در این وضعیت، سیستم دارای حداقل فلورسانس F_0 است. به‌تدریج با افزایش احیا شدن این مولکول‌ها، فلورسانس افزایش می‌یابد. این روند تا احیای کامل مولکول‌های آن ادامه پیدا می‌کند. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم در حالت احیای کامل است و تمام مراکز واکنش بسته‌اند و شدت فلورسانس حداکثر F_m است (Percival and Sheriffs, 2002). مقدار F_v/F_m نیز نشان‌دهندهٔ حداکثر بازده فتوشیمیایی فتوسیستم II است. از این پارامتر کلیدی، برای ارزیابی اثر تنش خشکی بر سیستم فتوسنتزی گیاه استفادهٔ زیادی شده است و با فرمول $F_v/F_m= (F_m-F_0)/F_m$ محاسبه می‌شود، به‌طوری که مقدار این پارامتر برای اکثر گونه‌های گیاهی در شرایط معمول محیطی حدود ۰/۸۳ است (Maxwell and Bjorkman and Demmig, 1987; Johnson, 2000; Fracheboud, 2006). مقادیر کمتر از این عملکرد زمانی مشاهده می‌شود که گیاه با تنش مواجه شده باشد که نشان‌دهندهٔ پدیدهٔ

بازدارندگی نوری[1] است. هدف اصلی این تحقیق، ارزیابی کاربرد روش فلورسانس‌متری برای ارزیابی سریع تنش خشکی در نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* L.) بود. داغداغان از گونه‌های بومی ایران است که امروزه در شهرهای بزرگ به‌منظور ایجاد فضای سبز و کمربند سبز در اطراف شهرها استفاده می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط رشد

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات البرز، واقع در حدود هفت کیلومتری مرکز شهر کرج با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۴ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقهٔ شمالی و ارتفاع ۱۳۰۰ متر از سطح دریا، بر روی نهال‌های یکسالهٔ داغداغان انجام گرفت.

بذرهای داغداغان از کیلومتر هفت جادهٔ چالوس به‌سمت نوجان در فاصلهٔ ۲۰۰ متری از رودخانهٔ چالوس، در ارتفاع حدود ۱۴۵۰ متر جمع‌آوری شد. یک‌سال قبل از شروع این تحقیق، بذرها در گلدان‌هایی به ابعاد ۴۰×۱۵ سانتی‌متر، حاوی خاک و کود زراعی با نسبت‌های ۲:۱ در فروردین سال ۱۳۹۰ کاشته شدند. رس، سیلت و شن موجود در بافت خاک نیز به‌ترتیب ۴۸، ۳۱ و ۲۱ درصد بود. نهال‌ها در خارج از محیط گلخانه و در شرایط طبیعی و یکسان رشد یافتند و آبیاری آنها به‌صورت روزانه انجام گرفت.

در خرداد ۱۳۹۱ نهال‌ها بعد از اینکه کاملاً رشد کردند و سیستم ریشه‌دوانی آنها توسعه یافت، به محل آزمایش منتقل شدند. در محل آزمایش شرایط تقریباً یکسانی از لحاظ دریافت نور خورشید برای تمام نهال‌ها مهیا شد. نهال‌ها به‌مدت دو ماه در محل آزمایش به‌منظور 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. نهال‌ها به‌صورت تصادفی در پنج گروه هفت‌تایی مرتب شدند. در هر گروه دو نهال به‌عنوان اثر حاشیه‌ای در نظر گرفته شد. پنج عدد از این نهال‌ها به‌عنوان شاهد انتخاب و یک روز در میان آبیاری شدند. سایر نهال‌ها تحت تیمارهای مختلف آبیاری قرار داده شده و به‌ترتیب با فواصل مشخص سه، پنج، هفت و نه‌روزه آبیاری شدند.

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

برای اندازه‌گیری مقدار فلورسانس کلروفیل از دستگاه فلورسانس‌متر (PAM-2500/Walz, Germany) استفاده شد. برای این منظور تعدادی گیرهٔ مخصوص پس از اطمینان از بسته بودن دریچهٔ آنها، روی برگ‌های کاملاً رشد یافته و سالم سوم یا چهارم از بالا نصب شدند تا برگ‌ها در شرایط تاریکی قرار گیرند و واکنش‌های روشنایی فتوسنتز متوقف گردد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، فیبر نوری دستگاه به گیره‌ها متصل شده و دریچهٔ آنها باز شد. با استارت کردن دستگاه، نور مدوله‌شده از طریق فیبر نوری به برگ تابیده شد و پارامترهای فلورسانس شامل F_0، F_m و F_v/F_m سنجیده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در بازهٔ زمانی ده صبح تا ۱۴ بعدازظهر انجام گرفت، زیرا در گونه‌های درختی جنگلی (گیاهان C_3) در این محدودهٔ زمانی، فلورسانس کلروفیل تمایل به ثابت شدن دارد (Noland and Mohammed, 1997).

اندازه‌گیری پرولین

به‌منظور تأیید صحت نتایج به‌دست آمده از طریق اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل در عرصه، مقدار پرولین جمع‌شده در برگ به‌عنوان شاخصی رایج برای ارزیابی تنش در گیاهان در محیط آزمایشگاه اندازه‌گیری شد، چراکه در شرایط تنش، تجمع پرولین سریع‌تر از پروتئین‌های دیگر رخ می‌دهد (Leinhose and Bergman,1995).

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از روش باتس و همکاران با نمونه‌برداری از برگ‌های کاملاً رشدیافته،

[1] Photoinhibition

سالم و بدون لکه‌های نکروزه انجام گرفت. سپس پرولین 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 دامنهٔ تغییر رنگ در نمونه‌هایی با مقادیر پرولین مشخص، تعیین شد. تولوئن خالص نیز به‌عنوان بلانک دستگاه به‌کار گرفته شد و استانداردها نسبت به آن سنجیده شد (Bates *et al*., 1973).

روش‌های تجزیه‌وتحلیل آماری

به‌منظور مقایسه میانگین و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SPSS 17 و Excel 2007 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شد و سپس با استفاده از آزمون leven همگنی واریانس‌ها سنجیده شد. پس از آن به‌کمک آزمون‌های Duncan و Games Howel میانگین پارامترهای اندازه‌گیری‌شده مقایسه شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از SPSS 17.0 انجام گرفت.

نتایج

پارامترهای فلورسانس کلروفیل

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌های فلورسانس کلروفیل در قالب طرح کاملاً تصادفی با یک فاکتور (تیمار آبیاری) در پنج سطح (۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ روز) در پنج تکرار در جدول یک آورده شده است. مقدار F_0 در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد، درحالی که تیمارهای مختلف در F_m و F_v/F_m دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد است.

جدول ۱- تجزیهٔ 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 گونهٔ داغداغان در بین سطوح مختلف آبیاری

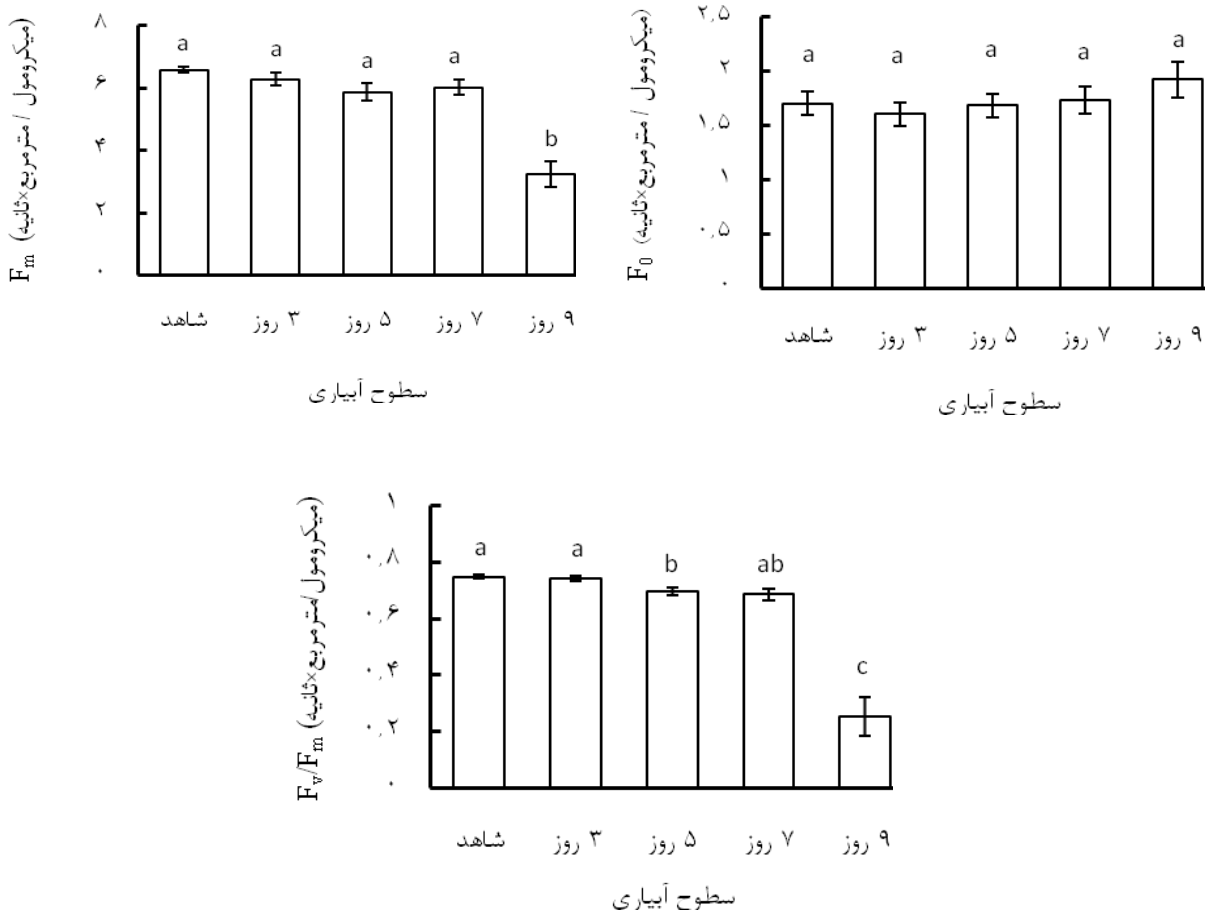
		میانگین مربعات پارامترهای فلورسانس کلروفیل		
منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	F_0	F_m	F_v/F_m
تیمار	۴	۰/۲۱۲ ns	۲۷/۲۲۳**	۰/۶۷۸**
خطا	۷۰	۰/۲۳۷	۱/۱۰۴	۰/۰۱۶

**معنی دار در سطح اطمینان ۱ درصد، *معنی دار در سطح اطمینان ۵ درصد، ns عدم اختلاف معنی دار

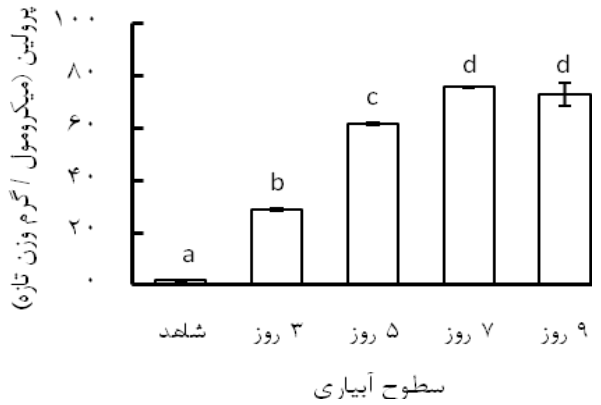
شکل ۱ مقایسه میانگین پارامترهای فلورسانس کلروفیل را در سطوح مختلف آبیاری نشان می‌دهد. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، مقدار F_0 در میان تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار نیست. میزان تغییرات F_m در بین سطوح مختلف آبیاری دارای روند کاهشی است، به‌طوری که این کاهش در تیمار نه‌روزه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با سایر تیمارها نشان داد. مشابه این نتایج، تغییرات F_v/F_m نیز دارای روند کاهشی است که این کاهش از تیمار پنج‌روزه معنی‌دار است.

پرولین

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، مقدار تولید پرولین در گونهٔ داغداغان با فاصله گرفتن از اولین روز بعد از اعمال تیمار افزایش یافته، به‌طوری که این افزایش تا تیمار هفت‌روزه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد نسبت به روز اول بود، ولی اختلاف بین تیمارهای هفت و نه‌روزه معنی‌دار نبود.



شکل ۱- مقایسه میانگین تغییرات پارامترهای فلورسانس کلروفیل در گونهٔ داغداغان بین سطوح مختلف آبیاری
(حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن است)



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای پرولین برگ در گونهٔ داغداغان در بین سطوح مختلف آبیاری
(حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون دانکن است)

بحث

پارامترهای فلورسانس کلروفیل

تنش خشکی یکی از شاخص‌های محیطی محدودکنندهٔ فتوسنتز گیاهان است. بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش خشکی، کاهش فتوسنتز با اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی همراه است (Graan and Boyer, 1990; Havaux and Lannoye, 1983). وقتی شدت نور کافی باشد، فلورسانس از مقدار F_0 به حداکثر مقدار خود افزایش پیدا می‌کند. این افزایش نشان‌دهندهٔ افزایش تدریجی عملکرد فلورسانس، همزمان با کاهش سرعت واکنش‌های فتوشیمیایی است. دلیل این کاهش آن است که Q_A احیا شده است و مراکز واکنش بسته است. هنگام بسته بودن کلیهٔ مراکز واکنش، واکنش‌های فتوشیمیایی رخ نمی‌دهند و فلورسانس کلروفیل به حداکثر خود یعنی F_m می‌رسد. در F_0 توان استفادهٔ فتوشیمیایی از انرژی برانگیخته حداکثر است.

نتایج این تحقیق نشان داد که در گونه داغداغان، در فلورسانس اولیه (F_0) بین سطوح مختلف آبیاری تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات Flagella *et al*. (1994); Lu *et al*. (2002) همخوانی دارد. بنابراین در گونهٔ داغداغان، تنش خشکی اثر شدیدی بر فلورسانس اولیه نداشته است. ازآنجا که قسمت عمدهٔ F_0 مربوط به فلورسانس کلروفیل پذیرنده‌های فتوسیستم II است (Trissl *et al*., 1993)، همچنین F_0 تشعشعی از کلروفیل‌های گیرنده در آنتن فتوسیستم II است (Mallick and Mohn, 2003)، به‌نظر می‌رسد کلروفیل‌های گیرنده در تیمارهای مختلف کارایی به‌نسبت یکسانی دارند (Wilson *et al*., 1993).

برخلاف F_0، فلورسانس حداکثر (F_m) با افزایش شدت خشکی کاهش داشته است. این کاهش در نهمین روز بعد از آبیاری دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد نسبت به شاهد بود. کاهش فلورسانس حداکثر، در شرایط تنش خشکی، نشان‌دهندهٔ اکسیداسیون کمتر Q_A و نیز کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی است (Wilson *et al*., 1993). در این تحقیق بازده فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) نیز همانند فلورسانس حداکثر، با افزایش سطوح تنش خشکی روند کاهشی داشت. این کاهش تا روز هفتم بسیار اندک بود و در روز نهم به‌شدت نسبت به روزهای قبل کاهش یافت. مقدار F_v/F_m نشان‌دهندهٔ ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II است (Paknejad *et al*., 2007) که با عملکرد کوانتوم فتوسنتز خالص همبستگی زیادی دارد (Anonymous, 1993). بنابراین کاهش نسبت F_v/F_m نشانهٔ کاهش حفاظت نوری است و همچنین دلیلی است بر اینکه تنش خشکی بر کارایی فتوسنتز اثر معنی‌داری گذاشته است.

Ali-Dib *et al*. (1994) بیان داشتند که کاهش کارایی مصرف فوتون به‌وسیله فتوسیستم II، بازدارندگی نوری را تحت شرایط تنش مشخص می‌کند. این محققان اعلام کردند که کاهش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II عمدتا به‌دلیل افزایش شدید انرژی برانگیختگی در گیرنده‌های کلروفیل است. شیب کاهشی شاخص خوبی برای ارزیابی بازدارندگی نوری در گیاهانی که در مجاورت تنش‌های محیطی نظیر خشکی و گرما همراه با میزان تشعشع زیاد قرار می‌گیرند، است (BolharNordenkampf *et al*., 1991).

نتایج تحقیق Yin *et al*. (2006) روی *Populus przewalski* تحت تأثیر دو تیمار آبیاری (۲۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، کاهش معنی‌دار F_m و F_v/F_m را نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

پرولین

یکی دیگر از شاخص‌های ارزیابی برای گزینش ارقام تحت شرایط خشکی، تجمع پرولین در اندام‌های مختلف گیاهی است (Leinhose and Bergman, 1995).

بررسی‌ها نشان می‌دهند که انباشتگی پرولین با حد تحمل به خشکی گیاه ارتباط مستقیم دارد (Van Rensburg *et al*., 1993). در این زمینه گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر اینکه پرولین اثر منفی نمک کلرورسدیم و تنش آبی را بر تثبیت کربن اصلاح می‌کند و می‌تواند کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو را در چنین شرایطی تعدیل کند (Fendina *et al*., 1993). به‌علاوه نشان داده شده است که تنظیم اسمزی سیتوپلاسم به‌وسیلهٔ افزایش مقدار بتائین[1] و پرولین انجام گیرد (Rhodes and Hanson, 1993). به عبارتی، در شرایط تنش، پرولین سریع‌تر از اسید آمینه‌های دیگر تجمع می‌یابد (Leinhose and Bergman, 1995). نتایج تجزیه‌وتحلیل داده‌های این تحقیق نشان داد که با افزایش تنش، مقدار پرولین در داغداغان افزایش یافت. (Elsheery and Cao, 2008) گزارش کردند که مقدار پرولین در نهال‌های دو کولتیوار انبه که به‌مدت ۱۵ روز در معرض تنش خشکی بودند، افزایش یافت. باهرنیک و همکاران در سال ۱۳۸۶ تأثیر تنش خشکی را بر برخی فرایندهای متابولیسمی گیاه *Parthenium argentatum* Gray بررسی کردند. آنان بدین منظور گیاه را تحت سه تیمار تنش کم، متوسط و شدید قرار دادند. نتایج بیانگر بیشترین تأثیر تنش بر درصد قند و پرولین این گیاه بود، به‌طوری که بیشترین مقدار پرولین مربوط به تیمار تنش خشکی شدید بود.

انتخاب دقیق پارامتر فلورسانس مناسب برای مطالعهٔ تنش در شرایط مختلف عاملی مهم محسوب می‌شود، چراکه صحت داده‌های به‌دست آمده را تضمین می‌کند. براساس نتایج این تحقیق و مرور منابع، بازده فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) به‌عنوان شاخصی مطمئن برای بررسی وضعیت گیاه پیشنهاد می‌شود. همان‌طور که ملاحظه شد، نتایج اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل نهال‌های داغداغان در سطوح مختلف آبیاری در عرصه، در راستای نتایج حاصل از اندازه‌گیری پرولین در محیط آزمایشگاه بود، به‌طوری که افزایش تجمع پرولین و کاهش مقدار فلورسانس، هر دو نشان‌دهندهٔ اثر تنش خشکی بر عملکرد گیاه است. به این ترتیب نتایج این تحقیق صحت داده‌های حاصل از اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل را تأیید و آن را روشی سریع و غیرمخرب برای ارزیابی و کنترل کیفیت نهال‌های داغداغان در شرایط تنش خشکی، همچنین تعیین آستانه آسیب‌پذیری سیستم فتوسنتزی آن قبل از بروز علائم ظاهری از قبیل زردی یا خشک شدن برگ‌ها معرفی می‌کند. به‌طور کلی با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، می‌توان گونه‌های گیاهی مقاوم به انواع تنش‌های محیطی را شناسایی و با توجه به ویژگی‌های اکولوژیک هر منطقه از آنها برای ایجاد فضای سبز و جنگلکاری استفاده کرد.

منابع

باهرنیک، زهرا، مهدی میرزا، بهلول عباس زاده و محمود نادری حاجی باقر کندی، ۱۳۸۶. تأثیر تنش خشکی بر برخی فرایندهای متابولیسمی گیاه (*Parthenium argentatum* Gray.)، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳ (۳): ۳۲۲-۳۱۵.

سرمدنیا، غلامحسین و عوض کوچکی، ۱۳۷۶. جنبه‌های فیزیولوژیکی زراعت دیم، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۳۲۰ ص.

علیزاده، امین، ۱۳۸۸. اصول هیدرولوژی کاربردی آستان قدس رضوی، دانشگاه امام رضا(ع)، ۸۷۲ ص.

Ali-Dib, T., P.H. Monneveux, J. Acevedo, and M.M. Nachil, 1994. Evaluation of proline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var. *durum*), *Euphytica*, 79(1-2): 65-73.

Anonymous, B., 1993. An introduction to fluorescence measurements with the plant efficiency analyzer, (PEA) Hansatech Instruments Ltd., England.

[1] نوعی اسید آمینه

Bates, L.S., R.P. Waldron, and I.D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant and Soil*, 39: 205-220.

Berberan_Santos, M.N., E.N. Bodunov, and B. Valeur, 2008. Luminescence decays with underlying distributions of rate constants: General properties and selected cases, in fluorescence of super molecules, Polymers and Nano Systems, Springer, Berlin, 67 p.

Bjorkman, O., and B. Demming, 1987. Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins, *Planta*, 170: 489-504.

Bolhar-Nordenkampf, H.R., M. Hofer, and E. Leclmer, 1991. Analysis of light-induced reduction of the photochemical capacity in field grown plants evidence for photo inhibition, *Photosynthesis Research*, 27(1): 31-39.

Elsheery, N.I., and K.F. Cao, 2008. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30: 769–777.

Fendina, I.S., T. Tsonev, and E.L. Guleva, 1993. The effect of pretreatment with proline on the responses of *Pisum sativum* L. to salt stress, *Photosynthetica*, 29: 521-527.

Flagella, Z., D. Pastore, R.G. Campanile, and N. Difonzo, 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drought tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars, *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, 122: 183-192.

Fracheboud, Y., 2006. Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis. Institute of Plant Sciences ETH, *Universitatstrass*, CH-8092 Zurich.

Graan, T., and J.S. Boyer, 1990. Very high Co_2 partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials, *Planta*, 181: 378-384.

Havaux, M., and R. Lannoye, 1983. Chlorophyll fluorescence induction: a sensitive indicator of water stress in maize plants, *Irrigation Science*, 4: 147-151.

Leinhose, V., and H. Bergman, 1995. Changes in the yield lignin content and protein pattern of barley induced by drought stress, *Angewandte-Batanik*, 69: 206-210.

Lu, Q., C. Lu, J. Zhang, and T. Kuang, 2002. Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field grown wheat plants, *Journal of Plant Physiology*, 159: 1173-1178.

Mallick, N., and F.H. Mohn, 2003. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 64–69.

Maxwell, K., and G.N. Johnson, 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide, *Journal of Exprimental Botany*, Oxford, 51(345): 659-668.

Noland, T.L., and G.H. Mohammed, 1997. Fluorescein diacetate as a viability stain for tree roots and seeds, *New Forests*, 14: 221–232.

Paknejad, F., M. Nasri, and H.R. Tohidi Moghadam, 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars, *Journal of Biological Science*, 6: 841-847.

Percival, G., and A. Henderson, 2003. An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78:225-260.

Percival, G.C., and C.N. Sheriffs, 2002. Identification of drought-tolerant woody perennials using chlorophyll fluorescence, *Journal of Arboriculture*, 28: 215–223.

Rhodes, D., and A.D. Hanson, 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants, *Plant Physiology*, 44: 357-384.

Trissl, H.W., Y. Gao, and K. Wulf, 1993. Theoretical fluorescence induction curves derived from coupled differential equations describing the primary photochemistry of photosystem II by an exciton-radical pair equilibrium, *Biophysiology Journal*, 64(4): 974–988.

Van Rensburg, L., C.H. Kruger, and H. Kruger, 1993. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion: its relationship to member integrity and chloroplast ultrastructure in Nicotiana tobacum L., *Journal of Plant Physiology*, 141:188-194.

Wilson, J.M., and J.A. Greaves, 1993. Development of fluorescence based screening programs for temperature and water stress in crop plants, Adaptation of Food Crop to Temperature and Water Stress, Shanhua, Taiwan, 389-398.

Yin, C.Y., F. Berninger, and C.Y. Li, 2006. Photosynthetic responses of Populus przewalski subjected to drought stress, *Photosynthetica*, 44 (1): 62-68.

Application of chlorophyll fluorescence technique as an indicator of drought tolerance in *Celtis caucasica* L. seedlings

F. Kordrostami[1], A. Shirvany[2], P. Attarod[3*], and M. Khoshnevis[4]

[1]M. Sc., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran
[2] Assistant Prof., Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran
[3] Associate Prof, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran
[4] Forest expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I. R. Iran

(Received: 29 December 2013, Accepted: 3 May 2014)

Abstract

Drought stress is one of the most important environmental factors limiting plant growth and development so finding the new techniques to evaluate the drought tolerance in plants, would be valuable. The purpose of this study was the application of chlorophyll fluorescence technique as a reliable method for rapid assessment of drought stress in hackberry seedlings (*Celtis caucasica* L.). An experiment was designed as completely randomized block with one factor (irrigation), at five levels (1, 3, 5, 7 and 9 days) with five replicates. Chlorophyll fluorescence parameters (F_v/F_m, F_m & F_0), and the proline content of leaves in one-year-old seedlings of *Celtis caucasica* were measured. The results indicated that maximum fluorescence (F_m) had a significant reduction in the 9 days treatment. Also maximum photochemical efficiency of photosystem II (F_v/F_m) showed a significant downward trend since the 5 days treatment, while the minimum fluorescence (F_0) was not significantly affected by drought. Increasing the intensity of drought was resulted in proline accumulation in leaves from 1.7 (µmol/gfw) in the 1 day treatment to 72.95 in the 9 days treatment. In afforestations and urban green spaces, measurement of chlorophyll fluorescence is a reliable method for identification of well-adapted species to environmental stress.

Keywords: *Celtis caucasica*, Chlorophyll fluorescence, Drought stress, Proline.

*Corresponding author Tel: +982632223044 Email: attarod@ut.ac.ir