



Research Paper

Growth and Physiological Responses of *Populus nigra* L. Male and Female Seedlings under Cadmium Stress

Jamshid Hatam¹, Masoud Tabari² , Nader Bahramifar³ and Alireza Fallah Nosratabad⁴

1- Ph.D. Student, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2- Professor, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran, (Corresponding author: mtabari@modares.ac.ir)

3- Associate Professor, Department of Environmental Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

4- Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran

Received: 17 March, 2023

Accepted: 10 June, 2023

Extended Abstract

Background: The accumulation of cadmium (Cd) in soil is a pressing environmental issue, recognized as one of the most toxic pollutants affecting terrestrial ecosystems. Cadmium can significantly reduce microbial activity and soil fertility, ultimately leading to the death of plants. This problem has raised global concerns due to its widespread occurrence and detrimental effects on agricultural productivity and ecosystem health. The present study aims to investigate the resistance of male (clone 62-167) and female (clone 62-149) individuals of black poplar (*Populus nigra* L.) to cadmium exposure. By examining various vegetative and physiological characteristics, this research seeks to provide insights into the potential for utilizing these clones in afforestation efforts on Cd-contaminated soils.

Methods: To achieve the study's objectives, a greenhouse experiment was designed following a randomized complete block design. This design incorporated two main factors: cadmium concentration (with levels of 0, 50, 150, and 200 mg/kg of soil) and gender (male and female clones of black poplar). The experiment was conducted over a period of 120 days, providing ample time to assess the impacts of cadmium on the seedlings. The physiological variables measured included net photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, water use efficiency, water potential, mesophilic conductance, and intracellular CO₂ concentration. In addition, several vegetative characteristics were evaluated, such as root collar diameter growth, height growth, total biomass, and leaf area. The stress treatment commenced in late May, where seedlings were irrigated weekly with a cadmium salt solution for the first five weeks. This approach ensured that the plants were exposed to cadmium in a controlled manner. Following this initial stress period, the seedlings were irrigated with rainwater, respecting the soil's water-holding capacity, at intervals of three days until the end of the experimental period in late September. This methodology allowed for a comprehensive assessment of how cadmium exposure affected the growth and physiological responses of both male and female clones.

Results: The results indicated a clear trend: as cadmium concentration increased, both leaf area and height growth of the seedlings decreased significantly. In the control group (0 mg/kg Cd), the highest height growth was recorded at 30.4 cm, while the maximum leaf area recorded was 51.8 cm². Interestingly, the highest total biomass of seedlings (59.2 g) was observed at the 50 mg/kg Cd concentration, suggesting that moderate levels of cadmium might not be as detrimental as higher concentrations. When comparing male and female clones, several key differences emerged. Regardless of the cadmium concentration, male seedlings demonstrated greater growth metrics than their female counterparts. Specifically, the collar diameter growth averaged 2.1 mm for males compared to 2.0 mm for females. In terms of height growth, males reached an average of 21.5 cm, while females achieved 19.9 cm. The leaf area measurements



also favored males, with averages of 43.08 cm² for males and 43.64 cm² for females. Total seedling mass showed similar trends, with males averaging 46.48 g and females 44.19 g. Water use efficiency was also higher in males, measuring 0.31 $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ compared to 0.26 $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ in females. Mesophilic conductance and stomatal conductance followed this pattern, with males recording 0.003 mol m⁻² s⁻¹ and 0.45 mol m⁻² s⁻¹, respectively, while females recorded 0.002 mol m⁻² s⁻¹ and 0.39 mol m⁻² s⁻¹. Notably, the only physiological parameter where females outperformed males was in transpiration, with females showing an average of 4.01 mol m⁻² s⁻¹ compared to 3.31 mol m⁻² s⁻¹ in males. Despite the adverse effects of increasing cadmium concentrations on most physiological and growth characteristics—including photosynthesis, water potential, water use efficiency, collar diameter, height, leaf area, and biomass—both male and female clones managed to maintain some level of physiological and growth activity even under high cadmium stress.

Conclusion: In conclusion, both male and female clones of black poplar exhibit a degree of tolerance to high concentrations of cadmium. However, for afforestation projects aimed at rehabilitating Cd-contaminated soils, the male clone (62-167) appears to be more successful than the female clone (62-149). This study highlights the potential for using male black poplar individuals in environmental remediation efforts, emphasizing the importance of selecting appropriate clones based on their physiological responses to pollutants. Future research should focus on elucidating the mechanisms behind cadmium tolerance in these clones, as well as exploring additional strategies for enhancing the resilience of plant species in contaminated environments.

Keywords: Biomass, Black poplar, Dioecious plant, Soil pollution, Water potential

How to Cite This Article: Hatam, J., Tabari, M., Bahramifar, N., & Fallah Nosratabad, A. R. (2023). Growth and Physiological Responses of *Populus nigra* L. Male and Female Seedlings under Cadmium Stress. *Ecol Iran For*, 11(2), 99-109. <https://doi.org/10.61186/ifej.11.22.91>



مقاله پژوهشی

پاسخ‌های رویشی و فیزیولوژیکی نهال‌های نر و ماده صنوبر تبریزی
(*Populus nigra* L.) به تنش کادمیومجمشید حاتم^۱، مسعود طبری کوچکسرائی^۲، نادر بهرامی‌فر^۳ و علیرضا فلاح نصرت‌آباد^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
 ۲- استاد، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران، (نویسنده مسوول: mtabari@modares.ac.ir)
 ۳- دانشیار، گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
 ۴- دانشیار، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۲۰
 صفحه: ۹۹ تا ۱۰۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تجمع کادمیوم یکی از سمی‌ترین آلاینده‌ها در خاک، می‌تواند به کاهش فعالیت‌های میکروبی و حاصلخیزی خاک و در نتیجه مرگ و میر گیاهان منجر شود؛ این مسأله همواره نگرانی‌های جهانی را به‌همراه داشته است. پژوهش حاضر با هدف بررسی مقاومت به کادمیوم پایه‌های نر (کلون ۶۲/۱۶۷) و ماده (کلون ۶۲/۱۴۹) صنوبر تبریزی (*Populus nigra* L.) بر اساس مشخصه‌های رویشی و فیزیولوژیکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای این منظور، یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل غلظت کادمیوم در سه سطح (۰، ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و جنسیت در دو سطح (پایه نر و پایه ماده صنوبر تبریزی) در یک دوره ۱۲۰ روزه انجام شد. متغیرهای فیزیولوژیکی نهال‌ها از جمله، نرخ فتوسنتز خالص، نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای، کارایی مصرف آب، پتانسیل آبی، هدایت مزوفیلی و غلظت CO₂ درون سلولی و مشخصه‌های رویشی از جمله قطر و ارتفاع نهال‌ها، زی‌توده کل و سطح برگ مورد بررسی قرار گرفت. تیمار تنش آلودگی در اوایل خرداد از طریق آبیاری با محلول نمک کادمیوم به‌صورت هفتگی و به‌مدت پنج هفته اول انجام شد. پس از آن، آبیاری نهال‌ها با آب باران با رعایت ظرفیت زراعی خاک در فواصل سه روزه تا پایان دوره (اویل مهر) صورت گرفت.

یافته‌ها: صرف‌نظر از جنس پایه، با افزایش غلظت کادمیوم، سطح برگ و رویش ارتفاع نهال‌ها کاهش یافت. در تیمار شاهد، بیشترین رویش ارتفاع (۳۰/۴ سانتی‌متر) و سطح برگ (۵۱/۸ سانتی‌متر مربع)، و در تیمار غلظت ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم، بیشترین زی‌توده کل نهال (۵۹/۲ گرم) مشاهده شد. صرف‌نظر از غلظت کادمیوم، اندازه رویش قطر یقه (نر ۲/۱، ماده ۲ میلی‌متر)، رویش ارتفاع نهال (نر ۲۱/۵، ماده ۱۹/۹ سانتی‌متر)، سطح برگ (نر ۴۳/۰۸، ماده ۴۳/۶۴ سانتی‌متر مربع)، زی‌توده کل نهال (نر ۴۶/۴۸، ماده ۴۴/۱۹ گرم)، کارایی مصرف آب (نر ۰/۳۱، ماده ۰/۲۶ میکرومول بر میلی‌مول)، هدایت مزوفیلی (نر ۰/۰۳، ماده ۰/۰۲ مول بر متر مربع در ثانیه) و هدایت روزنه‌ای (نر ۰/۴۵، ماده ۰/۳۹ مول بر مترمربع در ثانیه) در جنس نر بیشتر از جنس ماده بود و تنها، مقدار تعرق (نر ۳/۳۱، ماده ۴/۰۱ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) در جنس ماده بیشتر از جنس نر بوده است. اگرچه با افزایش غلظت کادمیوم، اندازه‌های فتوسنتز، پتانسیل آب، کارایی مصرف آب، قطر، ارتفاع، سطح برگ و زی‌توده روند کاهشی داشت؛ اما به‌طور کلی، نهال‌های هر دو جنس در غلظت‌های بالای کادمیوم فعالیت‌های فیزیولوژیکی و رویشی خود را تا حدودی حفظ کردند.

نتیجه‌گیری: از نتایج این تحقیق استنتاج می‌شود که هر دو پایه، تحمل به غلظت‌های بالای کادمیوم را دارند؛ با این‌وجود، برای جنگل‌کاری با صنوبر تبریزی در خاک‌های آلوده به کادمیوم، استفاده از پایه نر (کلون ۶۲/۱۶۷) می‌تواند موفقیت بیشتری نسبت به پایه ماده (کلون ۶۲/۱۴۹) به‌دنبال داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، پتانسیل آبی، درخت تبریزی، زی‌توده، گیاه دوپایه

مقدمه

به‌عنوان یکی از سمی‌ترین آلاینده‌های خاک، می‌تواند به کاهش فعالیت‌های میکروبی، تنوع‌یستی و حاصلخیزی خاک منجر شود و با تخریب ساختار فتوسنتزی گیاه، اختلال در جذب مواد غذایی، کاهش رشد و توسعه ریشه و برگ، مانع رشد گیاهان و حتی مرگ آنها شود (Lin and Aarts, 2012; Mokarram-Kashtiban et al., 2019). در واقع، این تأثیرات ناشی از تداخلات مستقیم و غیرمستقیم با یک سری از فرآیندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی (از جمله، فتوسنتز، تعرق، توازن آبی و غذایی، فعالیت‌های آنزیمی و آنتی‌اکسیدانت‌ها و برخی از زیست‌مولکول‌ها و بیان ژن) است (DalCorso et al., 2008).

تجمع کادمیوم می‌تواند منجر به پاسخ‌های فیزیولوژیکی و رویشی مختلف در گیاه شود. گیاهان همواره در طول زندگی در برابر تنش‌های محیطی (زیستی و غیرزیستی) قرار می‌گیرند. به‌همین دلیل، آن‌ها استراتژی‌های منحصر به‌فردی را برای پاسخ به تغییرات محیطی، پایش محیط اطراف و تنظیم سیستم‌های متابولیک خود برای حفظ هومئوستازی توسعه می‌دهند (Emami et al., 2016).

آلودگی خاک با فلزات سمی و تجمع آنها در نظام‌های زیستی در نتیجه فعالیت‌های انسان، یکی از نگرانی‌های جهانی قلمداد می‌شود. کادمیوم به‌همراه سرب، جیوه، کروم، نیکل، روی، آرسنیک و سلیوم تهدید جدی برای سلامت انسان و محیط زیست پیرامون تلقی می‌شود (Sun et al., 2020). از میان فلزات سنگین غیرضروری، کادمیوم به‌دلیل تحرک و پویایی بالاتر در سیستم خاک-گیاه و همچنین سمیت بیشتر آن برای انسان و حیوان بسیار مورد توجه دانشمندان قرار دارد (Di Baccio et al., 2010; Liu et al., 2020). کادمیوم یک فلز کمیاب است که به‌شکل طبیعی در محیط وجود دارد (Hao et al., 2020). این عنصر در سنگ‌های فسفات‌ها معادن، جزء کوچکی از عناصر تشکیل دهنده آن است و در اثر فعالیت‌های صنعتی، سوزاندن زباله، ترافیک شهری و نیز محصولات جانبی کودهای فسفات‌ها، در طبیعت آزاد می‌شود، که در کنار سایر منابع آلودگی، تبدیل به تهدید بزرگی برای سلامت انسان و محیط زیست خواهد بود (Nikolic et al., 2017). تجمع کادمیوم

در صنوبر دلتوئیدس داشته است (Chen et al., 2016; Hao et al., 2020).

صنوبرها از گیاهان سریع‌الرشد هستند که به‌طور گسترده و با هدف تأمین نیازهای چوبی صنایع در مناطق مختلف دنیا کشت می‌شوند (Tuskan et al., 2006). تبریزی (شالک)، سپیدار (کبوده)، پده و سفیدپلت از گونه‌های بومی جنس صنوبر در ایران هستند که پژوهش‌های متعددی در زمینه‌های مختلف اکولوژیکی روی آنها صورت گرفته است، اما نظر به دویا به بودن و استفاده از آنها در احیای اکوسیستم‌ها و همچنین پالایش آلودگی‌های خاک، مطالعه آنها دارای اهمیت پژوهشی به‌سزایی است (Xu et al., 2008; Hao et al., 2020). نظر به روند روبه افزایش آلاینده‌های صنعتی به‌عنوان منابع آلودگی فلزات سنگین، استفاده از روش‌های زیستی از جمله گیاه‌پالایی به‌منظور کاهش اثرات مخرب آلودگی‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف مقایسه مقاومت به کادمیوم پایه‌های نر و ماده نهال‌های صنوبر تبریزی (*Populus nigra* L.) بر اساس مشخصه‌های فیزیولوژیکی و برخی مشخصه‌های رویشی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق، نهال‌های گلدانی سالم و با ارتفاع یکسان ($50 \pm 2/5$ سانتی‌متر) کلون نر (۶۲/۱۶۷) و کلون ماده (۶۲/۱۴۹) صنوبر تبریزی (تولید شده از قلمه‌های کاشته شده در ماه فروردین)، در شرایط گلخانه (در دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس)، مورد تنش کادمیوم قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار (۱۹۲ نهال) با اعمال یون‌های کادمیوم در چهار سطح صفر، ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود که به‌صورت محلول آبی نمک $CdCl_2$ به خاک گلدان‌ها (شامل بافت لومی-شنی) در اوایل خرداد اضافه شد (Xu et al., 2019). شایان ذکر است که برای تهیه محلول، ابتدا مقدار مشخصی از نمک کادمیوم کلراید (Pankovic et al., 2000; Baumann et al., 2009) در آب باران (جمع‌آوری شده از سطوح آبگیر)، حل شد و غلظت‌های فوق‌به‌دست آمد. آبیاری نهال‌ها با آب باران از اوایل خرداد تا اوایل مهر (به مدت ۱۲۰ روز) در فواصل سه روزه، و آبیاری با محلول نمک کادمیوم به‌صورت هفتگی و به‌مدت پنج هفته اول (Xu et al., 2019) (اواسط تیر)، با رعایت ظرفیت زراعی خاک (Zarik et al., 2016) انجام شد. از آب باران به‌دلیل نزدیک بودن به شرایط آبیاری طبیعی و اینکه قدرت آبشویی و انحلال (به‌دلیل پایین بودن املاح) آن بیشتر از آب‌های سطحی است، استفاده شد.

متغیرهای فیزیولوژیکی نهال‌ها از جمله نرخ فتوسنتز خالص (A)، نرخ تعرق (E)، هدایت روزنه‌ای (Gs) و غلظت CO_2 درون سلولی (Ci) تحت شرایط طبیعی دما، نور و رطوبت نسبی هوا (ساعت ۱۱-۹/۵) با استفاده از دستگاه تبادلات گازی قابل حمل (Model LCpro+, ADC BioScientific Ltd., Hertfordshire, UK) اندازه‌گیری شد (Borghi et al., 2008). برای این منظور، از هر تکرار، ۳-۶ برگ از بالغ‌ترین و

اگرچه پژوهش‌های زیادی در ارتباط با پاسخ‌های گیاهان به کادمیوم خاک در دهه‌های گذشته صورت گرفته است اما مکانیزم‌های سمیت آن و همچنین ظرفیت تحمل گیاهان به کادمیوم اضافی، به‌طور کامل درک نشده است. این در حالی است که انباشت فلزات سنگین از جمله کادمیوم در گیاهان به مشخصه‌های فیزیوشیمیایی خاک (واکنش خاک، مواد آلی و محتوی آب خاک و ظرفیت تبادل کاتیونی) و فاکتورهای زیستی، مانند گونه‌های گیاهی، فعالیت ریشه و میکروارگانیزم‌های ریزوسفر بستگی دارد (Baize et al., 2008; Greger and Landberg, 2018). به‌طور خاص، گونه‌های مختلف گیاهی یا کلون‌های مختلف یک گونه دارای میزان جذب و حساسیت متفاوتی هستند (Emami et al., 2013; Polle et al., 2016). بررسی و شناسایی ویژگی‌هایی (فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی) که باعث حساسیت بیشتر یا کمتر گیاهان به کادمیوم اضافی در محیط خواهند شد، به‌عنوان راهکاری برای چگونگی کاهش اثرات منفی و مخرب آن و نیز شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم گیاهان جهت رشد و توسعه آنها در مناطق آلوده است (Durand et al., 2010; Castagna et al., 2013; Salehi, 2014). گونه‌های گیاهی دویا به (Dioecious plants) نقش مهمی در حفظ ثبات و عملکردهای اکوسیستم دارند (Renner, 2014). درصد گونه‌های دویا به در گیاهان چوبی نسبت به گیاهان علفی بیشتر است (Ohya et al., 2017; Kersten et al., 2017). تفاوت‌های جنسیتی در صفات رویشی و فیزیولوژیکی بین پایه‌های نر و ماده گیاهان چوبی دویا به تحت تنش‌های محیطی مختلف در مطالعات متعددی گزارش شده است (Juvany and Munne-Bosch, 2015; Liu et al., 2020). معمولاً، میزان جذب، انتقال، توزیع و سم‌زدایی فلزات سنگین به‌طور معنی‌داری در پایه‌های نر و ماده متفاوت است (Juvany and Munne-Bosch, 2015; Chen et al., 2016; Hao et al., 2020) که می‌تواند منبعی از تفاوت‌ها در رشد رویشی و زایشی پایه‌های نر و ماده باشد (Alvarez-Cansino et al., 2010).

عموماً پایه‌های ماده به‌دلیل تولید اندام‌های زایشی نظیر گل، میوه و بذر، انرژی بیشتری برای تولیدمثل صرف می‌کنند و پایه‌های نر منابع بیشتری را برای رشد رویشی و تحمل تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، سرما و خشکی اختصاص می‌دهند (Xu et al., 2008; Alvarez-Cansino et al., 2016; Chen et al., 2016). از این‌رو، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد که پایه‌های نر پس از قرار گرفتن در معرض تنش فلزات سنگین عملکرد بهتری دارند و فلزات بیشتری را در بافت‌های گیاهی انباشته می‌کنند (Liu et al., 2020). در پژوهشی که روی پاسخ جنسیتی نهال‌های صنوبر تبریزی به تنش کم‌آبی انجام شد (Khodadust et al., 2023)، در همه سطوح آبیاری پایه‌های نر نسبت به پایه‌های ماده در بیشتر مشخصه‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک مقادیر بیشتری را به‌خود اختصاص دادند. در خصوص تحمل گونه‌های درختی به فلز سنگین کادمیوم نیز مطالعاتی در گذشته صورت گرفته است که حکایت از پاسخ و عملکرد بهتر پایه نر نسبت به پایه ماده

همگنی واریانس با استفاده از آزمون تجزیه واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح اطمینان پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS9.1 (Rodriguez, 2004) استفاده شد. همچنین برای بررسی اثر متقابل جنسیت نهال و سطوح غلظت کادمیوم بر مشخصه‌های رویشی و فیزیولوژیکی از نرم‌افزار GenState (Payne, 2009) استفاده شد.

نتایج و بحث

جنسیت نهال اثر معنی‌داری بر مشخصه‌های غلظت CO_2 بین سلولی (درون روزنه‌ای)، سطح برگ، تعرق، کارایی مصرف آب، رویش ارتفاع نهال، زی‌توده کل نهال و پتانسیل آبی در سطح یک درصد ($p < 0.01$) و در سطح پنج درصد ($p < 0.05$) بر مشخصه‌های هدایت مزوفیلی، هدایت روزنه‌ای و رویش قطری یقه نهال داشت، اما بر فتوسنتز تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

توسعه یافته‌ترین برگ از قسمت‌های بالای نهال انتخاب شد (Parad et al., 2016). کارایی مصرف آب بر اساس رابطه ۱ و هدایت مزوفیلی بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد (Rohi and Marde, 2009). همچنین در پایان دوره، با استفاده از دستگاه محفظه فشار (Pressure chamber, Skye, SKPM 1400, UK)، پتانسیل آبی (Ψ) گیاه اندازه‌گیری شد (Yang et al., 2007).

$$\text{رابطه (۱)} \quad \frac{\text{فتوسنتز}}{\text{تعرق}} = \text{کارایی مصرف آب}$$

$$\text{رابطه (۲)} \quad \frac{\text{فتوسنتز}}{\text{غلظت } CO_2} = \text{هدایت مزوفیلی}$$

مشخصه‌های ریختی نهال‌ها یک بار قبل از اعمال تنش کادمیوم و یک بار در انتهای دوره آزمایش (۱۲۰ روز) و مشخصه‌های فیزیولوژیکی در پایان دوره اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹ انجام شد. داده‌ها پس از بررسی نرمالیت و

جدول ۱- تحلیل واریانس تأثیر جنسیت نهال و غلظت کادمیوم بر مشخصه‌های فیزیولوژیکی و رویشی نهال صنوبر تبریزی
Table 1. ANOVA of the effect of seedling sex and cadmium concentration on the growth and physiological characteristics of *Populus nigra* seedlings

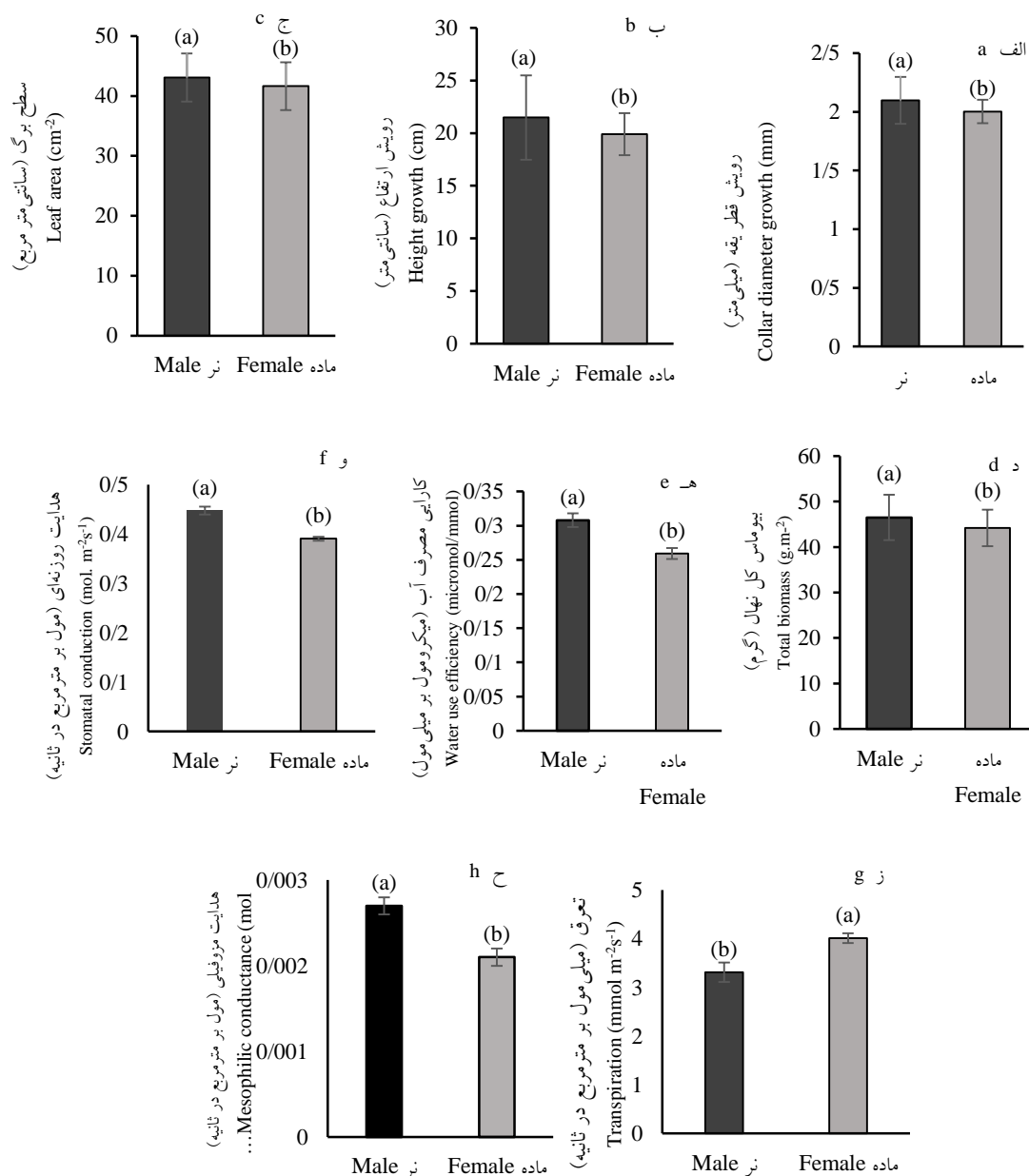
سطح برگ Leaf area (cm ²)		غلظت CO ₂ بین سلولی Intercellular CO ₂ concentration (μmol. mol)		تعرق Transpiration (mmol m ⁻² s ⁻¹)		هدایت روزنه‌ای Stomatal conduction (mol. m ⁻² s ⁻¹)		فتوسنتز Photosynthesis (μmol. m ⁻² s ⁻¹)							
اماره F و معنی‌داری F and P value	میانگین Mean Square	اماره F و معنی‌داری F and P value	میانگین Mean Square	اماره F و معنی‌داری F and P value	میانگین Mean Square	اماره F و معنی‌داری F and P value	میانگین Mean Square	اماره F و معنی‌داری F and P value	میانگین Mean Square						
6.77**	148.738	10.15**	9047.521	34.86**	5.908	3.44*	0.039	0.4*	0.008						
193.18**	4244.950	3.38*	3009.076	10.14**	1.719	13.78**	0.156	3.15*	0.066						
0.19 ^{ns}	4.236	5.18**	4620.799	2.12 ^{ns}	0.359	0.52 ^{ns}	0.008	5.72**	0.119						
پتانسیل آبی Water potential (Bar)	زی‌توده کل نهال Total biomass (gr.m ⁻²)	ارتفاع Height (cm)	قطر یقه Collar diameter (mm)	کارایی مصرف آب Water efficiency (μmol mmol ⁻¹)	جنسیت Gender کادمیوم Cadmium (Cd) جنسیت × کادمیوم Gender×Cd	560.68**	19.624	9.07**	377.575	16.05**	178.684	5.24*	0.664	11.35**	0.028
0.96 ^{ns}	0.034	206.64**	8599.428	395.66**	4405.138	320.81**	40.631	3.89*	0.009	0.009	0.009	0.009	40.631	3.89*	0.009
184.68**	6.464	0.30 ^{ns}	12.438	0.56 ^{ns}	6.210	0.67 ^{ns}	0.085	0.081 ^{ns}	0.002	0.002	0.002	0.085	0.085	0.081 ^{ns}	0.002
هدایت مزوفیلی Mesophyll conduction (mol m ⁻² s ⁻¹)															
					4.00*					4.108	جنسیت Gender کادمیوم Cadmium (Cd) جنسیت × کادمیوم Gender×Cd				
					1.76 ^{ns}					1.809	کادمیوم Cadmium (Cd)				
					2.461 ^{ns}					2.525	جنسیت × کادمیوم Gender×Cd				

ns, * and ** indicate non-significance, significance at the level of five percent ($p < 0.05$) and one percent ($p < 0.01$), respectively.

پتانسیل آبی در سطح یک درصد ($p < 0.01$) تفاوت معنی‌دار نشان داد.

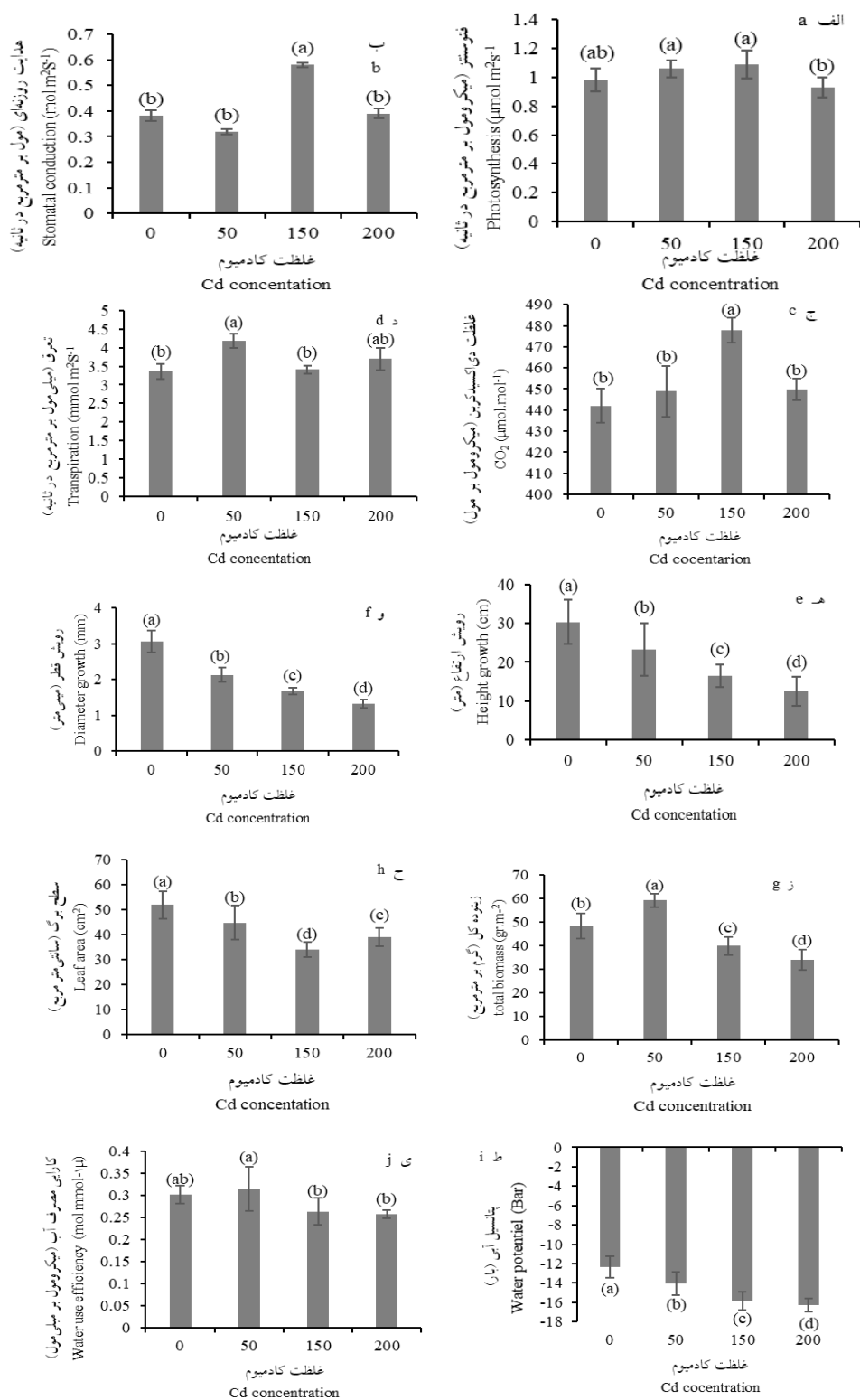
نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رویش قطر یقه، رویش ارتفاع نهال، سطح برگ، زی‌توده کل نهال، کارایی مصرف آب، هدایت مزوفیلی و هدایت روزنه‌ای در جنس نر بیشتر از جنس ماده بود و تنها مقدار تعرق در جنس ماده بیشتر از جنس نر بوده است (شکل ۱).

تیمار کادمیوم بر مشخصه‌های هدایت روزنه‌ای، تعرق، رویش ارتفاع نهال، رویش قطر نهال و زی‌توده کل نهال در سطح یک درصد ($p < 0.01$)، و بر غلظت CO_2 درون روزنه‌ای، فتوسنتز و کارایی مصرف آب در سطح پنج درصد ($p < 0.05$) تأثیر معنی‌دار گذاشت، اما تغییر معنی‌داری در پتانسیل آبی ایجاد نکرد. اثر متقابل جنسیت نهال با کادمیوم بر مشخصه‌های فتوسنتز، غلظت CO_2 درون روزنه‌ای، هدایت مزوفیلی و



شکل ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار الف- رویش قطر نهال، ب- رویش ارتفاع نهال، ج- سطح برگ، د- زی توده، ه- کارایی مصرف آب، و- هدایت روزنه‌ای، ز- تعرق تحت تاثیر جنسیت نهال و ح- هدایت مزوفیلی. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم معنی‌داری بین مشخصه‌ها است.

Figure 1. Comparison of mean \pm standard deviation a- Diameter growth, b- Height growth, c- Leaf area, d- Total biomass, e- Water use efficiency, f- Stomatal conductance and g- Transpiration as affected by gender. Similar letters indicate non-significance between male and female individuals.



شکل ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار الف- فتوسنتز، ب- هدایت روزنه‌ای، ج- غلظت دی‌اکسیدکربن بین سلولی، د- تعرق، ه- رویش ارتفاع نهال، و- رویش قطر نهال، ز- زی توده کل، ح- سطح برگ، ط- پتانسیل آبی، و ی- کارایی مصرف آب تحت تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم (میلی‌گرم/کیلوگرم). حروف یکسان نشان‌دهنده عدم معنی‌داری بین مشخصه‌ها است.

Figure 2. Comparison of mean \pm standard deviation a- Photosynthesis, b- Stomatal conduction, c- Intercellular carbon dioxide concentration, d- Transpiration, e- Height growth, f- Diameter growth, g- Total biomass, h- Leaf area, i- Water potential and j- water use efficiency under different cadmium concentrations (mg/Kg). Similar letters indicate non-significance among Cd concentrations.

کیلوگرم خاک بیشترین مقدار بودند. پتانسیل آبی (شکل ۲-ط) نیز در غلظت ۲۰۰ گرم بر کیلوگرم خاک (۱۶/۳- بار)، به‌طور منفی دارای بیشترین مقدار بود. نتایج همچنین نشان داد (جدول ۲)، بیشترین مقدار فتوسنتز در غلظت صفر به پایه ماده (۱/۱۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) و نر (۱/۱۲ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) اختصاص داشت. بیشترین غلظت CO₂ درون سلولی در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم به پایه نر (۴۹۱/۳ میکرومول بر مول) و ماده (۴۶۴/۳ میکرومول بر مول) تعلق داشت. بیشترین مقدار پتانسیل آبی به لحاظ منفی (۱۶/۸- بار) به پایه ماده در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم و (۱۶/۶- بار) به پایه نر در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم مربوط بود.

صرف‌نظر از جنس پایه، با افزایش غلظت کادمیوم، سطح برگ و رویش ارتفاع نهال‌ها کاهش یافت (جدول ۱). بزرگترین اندازه سطح برگ (۵۱/۸ سانتی‌متر مربع) (شکل ۲-ح)، رویش قطر یقه (۳/۱ میلی‌متر) (شکل ۲-و) رویش ارتفاع (۳۰/۴ سانتی‌متر) (شکل ۲-ه) در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار تعرق (۴/۱۹ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) (شکل ۲-د)، زی‌توده کل نهال (۵۹/۲ گرم) (شکل ۲-ز)، کارایی مصرف آب (۰/۳۰ میکرومول بر مول) (شکل ۲-ی) در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم مشاهده شد. فتوسنتز (۱-۱/۲ میکرومول بر مول بر مترمربع در ثانیه) (شکل ۲-الف) در غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ گرم بر کیلوگرم خاک، هدایت روزنه‌ای (۰/۵۸ میکرومول بر مول بر مترمربع در ثانیه) (شکل ۲-ب) و CO₂ بین سلولی (۴۷۸ میکرومول بر مول) (شکل ۲-ج) در غلظت ۱۵۰ گرم بر

جدول ۲- میانگین (± انحراف معیار) مشخصه‌های فیزیولوژیکی نهال‌های صنوبر تبریزی تحت تاثیر متقابل جنسیت نهال و سطوح غلظت کادمیوم
Table 2. Mean (± standard deviation) of the physiological characteristics of *Populus nigra* seedlings under interaction of gender × cadmium concentration

مشخصه‌های مورد مطالعه				
پتانسیل آبی Water potential (Bar)	غلظت CO ₂ بین سلولی Intercellular CO ₂ concentration (μmol. mol)	فتوسنتز Photosynthesis (μmol. m ⁻² s ⁻¹)	غلظت کادمیوم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Cadmium concentration (mg/kg)	جنسیت نهال Gender
-10.8±0.3 ^c	431.2±37.3 ^c	1.12±0.21 ^a	0	نر Male
-14.2±0.1 ^b	464.2±35.1 ^c	1.08±0.17 ^{ab}	50	
-16.6±0.1 ^a	491.3±30.8 ^a	0.82±0.11 ^c	150	
-15.8±0.2 ^{ab}	486.8±37.2 ^b	0.98±0.12 ^b	200	
-13.9±0.1 ^{bc}	453±32.6 ^b	1.14±0.12 ^a	0	ماده Female
-13.9±0.2 ^{bc}	433.7±31 ^c	1.03±0.11 ^{ab}	50	
-15.1±0.2 ^{ab}	464.3±7.8 ^a	1.07±0.19 ^{ab}	150	
-16.8±0.2 ^a	412.7±9.4 ^d	0.87±0.05 ^{bc}	200	

حروف یکسان در ستون نشان‌دهنده عدم معنی‌داری بین ۸ ترکیب تیمار در هر مشخصه مورد مطالعه است.

The same letters in the column indicate non-significance between 8 treatment combinations in each studied characteristic

گونه‌های جنس صنوبر از جمله، صنوبر هبیرید (*P. deltoides* × *P. nigra*) (Wu et al., 2010)، کبوده (*P. alba*) (Di Lonardo et al., 2010; Hu et al., 2014) و صنوبر لرزان (*P. deltoides*) (Nikolic et al., 2017) نیز در تحقیقات گذشته گزارش شده است. علت روند کاهش زی‌توده با افزایش غلظت کادمیوم، به‌دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیک متنوع (مانند کاهش فتوسنتز، کاهش کارایی مصرف آب و پتانسیل آبی) که با کاهش میزان آنها اثرات کاهشی بر مشخصه‌های رویشی به‌ویژه زی‌توده خواهد گذاشت (Kundu, 2023) در بین کلون‌ها و واریته‌های صنوبر بیان شده است که منجر به بروز پاسخ‌های متفاوت در گیاه گردیده است (Zalesny et al., 2005). این تفاوت‌ها، همچنین ممکن است متأثر از ویژگی‌های خاک، شرایط رویش، سن و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و نیز حساسیت‌های کلونی و گونه‌ای باشد. اصولاً، تحت تنش کادمیوم، محدود شدن فتوسنتز و در نتیجه، کاهش رشد گیاه اتفاق می‌افتد (Weigel and Jager, 1980; Iqbal and Khan, 2010; Kundu, 2023). این امر در نتایج پژوهش حاضر، با کاهش یافتن رویش قطر، رویش ارتفاع، سطح برگ و زی‌توده کل نهال‌ها قابل مشاهده است. نتایج مشابه، روی نهال‌های داغدان (*Celtis caucasica*) و اقاقیا (*Robinia pseudoacacia*) (Dezhban et al., 2015) و نیز

گیاهان درجات متفاوتی به تحمل فلزات سنگین را نشان می‌دهند که نتیجه آن، حذف یا تجمع آنها در بافت‌ها، اندام‌ها یا بخش‌های زیر سلولی خاص است. سمیت ناشی از تجمع کادمیوم، اغلب منجر به تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بافت‌های گیاهی می‌شود که رشد و نمو را به تأخیر می‌اندازد (El Rasafi et al., 2022). تجمع کادمیوم در برگ نهال (صنوبر تبریزی، *Populus nigra*) اغلب باعث افزایش محتوای اسیدآبسیزیک، اتیلن و جیبرلین‌ها و کاهش سیتوکینین و اکسین درون گیاه شده اما روی الکترون فتوسنتزی هیچ تأثیری ندارد (Lomiglio et al., 2015). تجمع کادمیوم همچنین فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به‌ویژه رادیکال‌های آزاد (در هبیرید *P. nigra* × *P. simonii*) (Yang et al., 2023) و هبیرید (*P. nigra* × *P. maximowiczii*) (Kundu, 2023) را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، اغلب مشخصه‌های رویشی (رویش قطر یقه، رویش ارتفاع، سطح برگ) روند کاهشی داشته است. بزرگترین اندازه قطر یقه، ارتفاع نهال و سطح برگ در تیمار شاهد یا زمانی که کادمیوم در خاک وجود نداشته، مشاهده شد. البته، زی‌توده و تعرق در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم بیشترین مقدار را داشته است که با افزایش غلظت از مقدار آن کاسته شد. کاهش زی‌توده با افزایش سطح غلظت کادمیوم، برای سایر

نیز کاهش می‌یابد (Sharma and Dubey, 2005). صرف‌نظر از اثر تیمار کادمیوم، مقدار تعرق در پایه نر همواره کمتر از پایه ماده بوده است. البته، در ارتباط با نقش جنسیت در تعرق گیاهان، مطالعات اندک است و برای پی‌بردن به علل بیشتر بودن تعرق در جنس ماده نسبت به جنس نر ممکن است نیاز به مطالعات دقیق ژنومی و متابولیسم درون سلولی باشد (Gharebaghi et al., 2012; Salehi, 2014).

در تحقیق پیش‌رو، غلظت CO_2 درون سلولی در پایه نر رشد یافته در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم دارای بیشترین مقدار بود، و اندازه آن در هر سطح کادمیوم در پایه نر بیشتر از پایه ماده بوده است. با توجه به گزارشات منتشر شده، عموماً هرگاه غلظت کادمیوم افزایش پیدا می‌کند، غلظت CO_2 درون سلولی افزایش می‌یابد تا با سنتز متابولیت ثانویه، اثر سمیت کادمیوم در گیاه کاهش یابد (Hamada et al., 2015; Gong et al., 2023). از طرفی، غلظت‌های بالای CO_2 احتمالاً از طریق افزایش کارایی مصرف آب و واسطه‌گری در تولید و حذف رادیکال‌های آزاد، تنش عناصر سنگین برای گیاهان را کاهش می‌دهد (Abdelgawad et al., 2015). اندازه پتانسیل آبی با افزایش غلظت کادمیوم به‌طور منفی افزایش یافت و این افزایش در پایه ماده بیشتر (به‌طور منفی) از پایه نر بوده است. در ارتباط با بالاتر بودن پتانسیل آبی تحت تنش کادمیوم گزارش‌های متعددی وجود دارد، طوری که کادمیوم ممکن است از طریق تغییر در تعادل آب گیاه، از رشد سلول‌های برگ جلوگیری کند و محتوای پتانسیل آبی را (به‌طور منفی) افزایش دهد (Saradhi, 1991; Polle et al., 2013).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج نشان داد که بین جنسیت نر و ماده نهال‌های صنوبر تبریزی تفاوت معنی‌داری در مشخصه‌های فیزیولوژیکی و رویشی وجود دارد به‌طوری‌که بالاترین اندازه‌ها اغلب در جنس نر مشاهده شد. با افزایش غلظت کادمیوم، اندازه مشخصه‌های مطالعه شده دچار افت شدند؛ با این‌وجود، نهال‌های هردو جنس در غلظت‌های بالای کادمیوم فعالیت‌های فیزیولوژیکی و رویشی خود را تا اندازه‌ای حفظ کردند. در مجموع، می‌توان اظهار داشت که اگرچه هر دو پایه صنوبر تبریزی، تحمل به غلظت‌های بالای کادمیوم را دارند لیکن در خاک‌های آلوده به کادمیوم، برای توسعه جنگل‌کاری، کاشت پایه نر (کلون ۶۲/۱۶۷) می‌تواند نسبت به پایه ماده (کلون ۶۲/۱۴۹) ارجحیت داشته باشد.

References

- Alvarez-Cansino, L., Zunzunegui, M., Díaz Barradas, M. C. & Esquivias, M.P. (2010). Gender-specific costs of reproduction on vegetative growth and physiological performance in the dioecious shrub *Corema album*. *Annals of Botany*, 106(6), 989-998.
- Baize, D., Bellanger, L. & Tomassone, R. (2009). Relationships between concentrations of trace metals in wheat grains and soil. *Agronomy for sustainable development*, 29, 297-312.
- 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(4):1063-1075.
- Borghini, M., Tognetti, R., Monteforti, G. & Sebastiani, L. (2008). Responses of two poplar species (*Populus alba* and *Populus x canadensis*) to high copper concentrations. *Environmental and Experimental Botany*, 62(3), 290-299.
- Castagna, A., Di Baccio, D., Tognetti, R., Ranieri, A. & Sebastiani, L. (2013). Differential ozone sensitivity interferes with cadmium stress in poplar clones. *Biologia plantarum*, 57(2), 313-324.

روی نخودفرنگی (*Pisum sativum*) به اثبات رسیده است (Hattab and Dridi, 2009).

در تحقیق حاضر، صرف‌نظر از اثر تیمار کادمیوم، تفاوت معنی‌داری در مقدار فتوسنتز بین دو جنس نر و ماده مشاهده نشد. این در حالی است که اندازه فتوسنتز با افزایش غلظت کادمیوم، در هر یک از دو جنس کاهش یافت که با نتایج پژوهش‌های دیگر همخوانی دارد (Weigel and Jager, 1980; Khan, et al., 2006; Mobin and Khan, 2007; Iqbal and Khan, 2010). یکی از دلایل این موضوع را می‌توان به حساسیت فتوسنتز به کادمیوم دانست چراکه کادمیوم، کلروفیل و آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO_2 را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chaffei et al., 2003). دلیل دیگر را می‌توان به تأثیر کادمیوم روی کمپلکس جذب کننده نور، سیر تکاملی اکسیژن و سیتوکروم ساختمان کلروپلاست برگ و در نتیجه کاهش بازده فتوسنتز کل مرتبط دانست (Poschenrieder et al., 1989).

مطابق نتایج در دست، بیشترین اندازه هدایت روزنه‌ای در غلظت بالای کادمیوم (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) مشاهده شد. اصولاً، کادمیوم اضافی با تداخل در فعالیت آنزیم‌ها، انتقال الکترون فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارد و در نتیجه، رشد و بهره‌وری گیاه را کاهش می‌دهد (Hasan et al., 2009; de Araujo et al., 2017). به‌طور مشابه، افزایش هدایت روزنه‌ای در غلظت بالای کادمیوم در پژوهش انجام یافته روی صنوبر هیبرید *Populus deltoides* × *Populus maximowiczii* (Castagna et al., 2013) و روی سایر گیاهان گزارش شده است (Poschenrieder et al., 1989).

بیشترین اندازه تعرق در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم مشاهده شد در حالی که در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت. رابطه مثبت و معنی‌دار بین میزان فتوسنتز و تعرق در گیاهان گزارش شده است (Rahmani et al., 2020) که یکی از دلایل کاهش تعرق در غلظت‌های بالای کادمیوم را می‌توان به کاهش فتوسنتز نسبت داد. همان‌طور که مشاهده شد، رویش قطر یقه، رویش ارتفاع و اندازه سطح برگ نهال‌های صنوبر تبریزی با افزایش غلظت کادمیوم روند کاهشی داشتند که این امر را نیز می‌توان یکی از دلایل کاهش تعرق در غلظت‌های بالای کادمیوم دانست. اصولاً، افزایش غلظت عناصر سنگین باعث کاهش میانگین طول ساقه، ریشه، کاهش سطح برگ گیاهان می‌شود؛ در نتیجه، با کاهش اندام رویشی، تعرق گیاه

- Castiglione, S., Franchin, C., Fossati, T., Lingua, G., Toriggiani, P. & Biondi, S. (2006). High zinc concentrations reduce rooting capacity and alter metallothionein gene expression in white poplar - (*Populus alba* L. cv. Villafranca). *Chemosphere*, 67, 1117- 1126.
- Chaffei, C., Gouia, H. & Ghorbel, M.H. (2003). Nitrogen metabolism in tomato plants under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 1617-1634.
- Chen, L., Zhang, D., Yang, W., Liu, Y., Zhang, L. & Gao, S. (2016). Sex-specific responses of *Populus deltoides* to Glomus intraradical colonization and Cd pollution. *Chemosphere*, 155, 196-206.
- DalCorso, G., Farinati, S., Maistri, S., & Furini, A. (2008). How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression. *Journal of integrative plant biology*, 50(10), 1268-1280.
- de Araujo, R.P., de Almeida, A.A.F., Pereira, L.S., Mangabeira, P.A., Souza, J.O., Pirovani, C.P., Ahnert, D. & Baligar, V.C. (2017). Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 148-157.
- Dezhban, A., Shirvany, A., Attarod, P. & Delshad, M. (2015). Response of chlorophyll fluorescence and growth of *Celtis caucasica* and *Robinia pseudoacacia* seedlings to the cadmium stress. *Journal of Forest Sustainable Development*, 1(4), 352-363 (In persian).
- Di Lonardo S., Capuana M., Arnetoli M., Gabbrielli R. & Gonnelli C. (2010). Exploring the metal phytoremediation potential of three *Populus alba* L. clones using an in vitro screening, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 18(1), 82-80.
- Di Baccio, D., Castagna, A., Tognetti, R., Ranieri, A., & Sebastiani, L. (2014). Early responses to cadmium of two poplar clones that differ in stress tolerance. *Journal of plant physiology*, 171(18), 1693-1705.
- Durand, T.C., Sergeant, K., Planchon, S., Carpin, S., Label, P., Morabito, D., Hausman, J.F. & Renaut, J. (2010). Acute metal stress in *Populus tremula* × *P. alba* (717-1B4 genotype): Leaf and cambial proteome changes induced by cadmium²⁺. *Proteomics*, 10(3), 349-368.
- El Rasafi, T., Ouksarroum, A., Haddioui, A., Song, H., Kwon, E.E., Bolan, N., Tack, F.M., Sebastian, A., Prasad, M.N.V. & Rinklebe, J. (2022). Cadmium stress in plants: A critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies. *Environmental Science and Technology*, 52(5), 675-726.
- Emami, A. S., Tabari Kouchaksaraei, M., Bahramifar, N. & Salehi, A. (2016). Gas exchange responses of two poplar clones (*Populus euramericana* (Dode) Guinier 561/41 and *Populus nigra* Linnaeus 63/135) to lead toxicity. *Journal of Forest Science*, 62(9), 422-428.
- Gharebaghi, N., Jafari, H., Saidnematpor, F., Taheri, M. & Sohrabi, E. (2012). Locating related genes is an effective physiological indicator of tolerance to cadmium in the *Hordeum Vulgare*. In Proceedings of 1th National conference (In Persian).
- Gong, Z., Duan, Y., Liu, D., Zong, Y., Zhang, D., Shi, X., ... & Li, P. (2023). Physiological and transcriptome analysis of response of soybean (Glycine max) to cadmium stress under elevated CO₂ concentration. *Journal of Hazardous Materials*, 448, 130950.
- Greger, M., & Landberg, T. (2008). Role of rhizosphere mechanisms in Cd uptake by various wheat cultivars. *Plant and soil*, 312(1-2), 195-205.
- Hamada, H., Farfan-Vignolo, E.R., Vos, D.D. & Han, A., (2015). Elevated CO₂ mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. *Plant Science*, 231, 1-10.
- Hao, L., Chen, L., Zhu, P., Zhang, J., Zhang, D., Xiao, J., Xu, Z., Zhang, L., Liu, Y., Li, H. & Yang, H. (2020). Sex-specific responses of *Populus deltoides* to interaction of cadmium and salinity in root systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195, 110437.
- Hasan, S.A., Fariduddin, Q., Ali, B., Hayat, S. & Ahmad, A. (2009). Cadmium: toxicity and tolerance in plants. *J Environ Biol*, 30(2), 165-174.
- Hattab, S. & Dridi, B. (2009). Photosynthesis and growth responses of pea (*Pisum sativum* L.) under heavy metals stress. *Journal of Environmental Sciences*, 21, 1552-1556.
- Hu, Y., Nan, Z., Jin, C., Wang, N. & Luo, H. (2014). Phytoextraction potential of poplar (*Populus alba* L. var. pyramidalis Bunge) from calcareous agricultural soils contaminated by cadmium. *International journal of phytoremediation*, 16(5), 482-495.
- Iqbal, N. & Khan, N.A. (2010). Variation in growth, photosynthesis functions and yield of five mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars under high cadmium stress. *Plant Stress*, 4, 87-93.
- Jiang, H., Korpelainen, H., & Li, C. (2013). *Populus yunnanensis* males adopt more efficient protective strategies than females to cope with excess zinc and acid rain. *Chemosphere*, 91(8), 1213-1220.
- Juvany, M. & Munne-Bosch, S. (2015). Sex-related differences in stress tolerance in dioecious plants: a critical appraisal in a physiological context. *Journal of experimental botany*, 66(20), 6083-6092.
- Kersten, B., Pakull, B. & Fladung, M. (2017). Genomics of sex determination in dioecious trees and woody plants. *Trees*, 31, 1113-1125.
- Khan, N.A., Samiullah, Singh, S. & Nazar, R. (2006). Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronom and Crop Science*, 193, 435-444.
- Khodadust, A., Tabari, M., Sadati, S.E. & Vicente, O. (2023). Sexual response of black poplar seedlings to water deficit stress. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 30(2), 230-241.
- Kundu, S. (2023). Physiological and Biochemical Responses to Salt and Cadmium Stress and It's Amelioration by Exogenous Application of Polyamines in Hybrid Poplar (*Populus nigra* x *maximowiczii*, Clone NM6) (Doctoral dissertation, University of New Hampshire).
- Liu, M., Bi, J., Liu, X., Kang, J., Korpelainen, H., Niinemets, U. & Li, C. (2020). Microstructural and physiological responses to cadmium stress under different nitrogen levels in *Populus cathayana* females and males. *Tree Physiology*, 40(1), 30-45.
- Lin, Y.F., & Aarts, M.G. (2012). The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cellular and molecular life sciences*, 69(19), 3187-3206.
- Lomaglio, T., Rocco, M., Trupiano, D., De Zio, E., Grosso, A., Marra, M., Delfine, S., Chiatante, D., Morabito, D. & Scippa, G.S. (2015). Effect of short-term cadmium stress on *Populus nigra* L. detached leaves. *Journal of Plant Physiology*, 182, 40-48.

- Mobin, M. & Khan, N.A. (2007). Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164, 601-610.
- Mokarram-Kashtiban, S., Hosseini, S.M., Tabari Kouchaksaraei, M. & Younesi, H. (2019). Bioavailability of Soil Heavy Metals as Influenced by Biochar and *Rhizosphere Bacteria* in the White Willow Phytoremediation Process. *Applied Soil Research*, 7(4), 196-211.
- Nikolic, N., Zoric, L., Cvetkovic, I., Pajevic, S., Borisev, M., Orlovic, S. & Pilipovic, A. (2017). Assessment of cadmium tolerance and phytoextraction ability in young *Populus deltoides* L. and *Populus euramericana* plants through morpho-anatomical and physiological responses to growth in cadmium enriched soil. *iForest- Biogeosciences and Forestry*, 10(3), 635.
- Ohya, I., Nanami, S. & Itoh, A. (2017). Dioecious plants are more precocious than cosexual plants: A comparative study of relative sizes at the onset of sexual reproduction in woody species. *Ecology and evolution*, 7(15), 5660-5668.
- Pankovic, D., Plesnicar, M., Arsenijevic-Maksimovic, I., Petrovic, N., Sakac, Z. & Kastori, R. (2000). Effects of nitrogen nutrition on photosynthesis in Cd-treated sunflower plants. *Annals of Botany*, 86(4), 841-847.
- Parad, G.A., Kouchaksaraei, M. T., Striker, G.G., Sadati, S.E. & Nourmohammadi, K. (2016). Growth, morphology and gas exchange responses of two-year-old *Quercus castaneifolia* seedlings to flooding stress. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 31(5), 458-466.
- Payne, R.W. (2009). GenStat. Wiley Interdisciplinary Reviews: *Computational Statistics*, 1(2), 255-258.
- Polle, A., Klein, T., & Kettner, C. (2013). Impact of cadmium on young plants of *Populus euphratica* and *P. canescens*, two poplar species that differ in stress tolerance. *New Forests*, 44(1), 13-22.
- Poschenrieder, C., Gunse, B. & Barcelo, J. (1989). Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiology*, 90(4), 1365-1371.
- Prasad, M.N.V. & Strzalka, K. (1999). Impact of heavy metals on photosynthesis. In: M.N.V. Prasad & J. Hagemeyer (ed): *Heavy Metal Stress in Plants. Heidelberg: Springer*, 117-138.
- Rahmani, A., Asghari, A., Jafari, H. & Sofalian, O. (2020). Physiological and morphological responses of two barley varieties and their progenies to toxic effects of Lead. *Journal of Plant Production*, 27(3), 205-227.
- Renner, S.S. (2014). The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. *American Journal of botany*, 101(10), 1588-1596.
- Rohi, A. & Marde, S.S., A. (2009). A study on gas exchange in various genotypes of wheat exposed to drought stress. *Scientific Magazine of Sapling & Seeds*, 24, 45-62.
- Rodriguez, R.N. (2004). An Introduction to ODS for Statistical Graphics in SAS 9.1. In Proceedings of the Twenty-ninth Annual SAS Users Group International Conference. *Cary, NC: SAS Institute Inc.*
- Salehi, A., Tabari Kouchaksaraei, M., Goltapeh, E. M., Shirvany, A. & Mirzaei, J. (2016). Effect of mycorrhizal inoculation on black and white poplar in a lead-polluted soil. *Journal of Forest Science*, 62(5), 223-228.
- Saradhi, P.P. (1991). Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology*, 138(5), 554-558.
- Sharma, P. & Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 35-52.
- Sun, H., Fu, J. & Yang, F. (2020). Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Switchgrass Growth and Mineral Nutrition in Cadmium-Contaminated Soil. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(2), 1369-1377.
- Tuskan, G.A., DiFazio, S., Jansson, S., Bohlmann, J., Grigoriev, I., Hellsten, U., Putnam, N., Ralph, S., Rombauts, S., Salamov, A. & Schein, J. (2006). The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science*, 313(5793), 1596-1604.
- Villiers, F., Ducruix, C., Hugouvioux, V., Jarno, N., Ezan, E. & Garin, J. (2011). Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches. *Proteomics*, 11(9), 1650-1663.
- Weigel, H.J. & Jager, H.J. (1980). Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in bean plants. *Plant Physiology*, 65, 480-482.
- Wu, F., Yang, W. Zhang, J. & Zhou, L. (2010). Cadmium accumulation and growth responses of a poplar (*Populus deltoides* × *Populus nigra*) in cadmium contaminated purple soil and alluvial soil. *Journal of Hazardous Materials*, 177, 268-273.
- Xu, X., Yang, F.A.N., Xiao, X., Zhang, S., Korpelainen, H. & Li, C. (2008). Sex-specific responses of *Populus cathayana* to drought and elevated temperatures. *Plant, cell & environment*, 31(6), 850-860.
- Xu, S., Li, B., Li, P., He, X., Chen, W., Yan, K., Li, Y. & Wang, Y. (2019). Soil high Cd exacerbates the adverse impact of elevated O₃ on *Populus alba* 'Berolinensis' L. *Ecotoxicology and environmental safety*, 174, 35-42.
- Yang, C.H., Sun, Y., Wang, Y.Q., Yang, P. & Wang, L. (2023). Genomic-Wide Analysis Identifies the PI-PLC Gene Family and Expression of Its Member PsnPI-PLC6 Confers Cadmium Tolerance in Transgenic Tobacco Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(3), 31.
- Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q. & Yin, H.J. (2007). Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *Photosynthetica*, 45(4), 613-619.
- Zalesny Jr. R.S., Bauer, E.O., Hall, R.B., Zalesny, J.A., Kunzman, J., Rog, C.J. & Riemenschneider, D.E. (2005). Clonal variation in survival and growth of hybrid poplar and willow in an in-situ trial on soils heavily contaminated with petroleum hydrocarbons, *International Journal of Phytoremediation*, 7, 177-197.
- Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouahmann, A., Ouahmane, L., Duponnois, R. & Boumezzough, A. (2016). Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. *Comptes Rendus Biologies*, 339(5-6), 185-196.