

## *Eucalyptus viminalis* Labill.

- پژمان پرهیزکار<sup>۱\*</sup>، سودابه علی احمدکرووری<sup>۲</sup>، فرهنگ مراقبی<sup>۳</sup>، مریم تیموری<sup>۴</sup>، یوسف ترابیان<sup>۵</sup> و نگین منوچهری<sup>۶</sup>
- \*۱- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری جنگل‌داری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران. پست الکترونیک: parhizkar@rifr-ac.ir
- ۲- دانشیار پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.
- ۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری.
- ۴- مربی پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.
- ۵- مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان.
- ۶- کارشناس ارشد جنگل‌داری، دانشگاه تهران.
- تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۰/۲۲

### چکیده

اثر تغییرات فصلی در شکل ظاهری گیاهان خزان‌کننده به‌خوبی قابل مشاهده است. علاوه بر این، فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان خزان‌کننده و همچنین گیاهان همیشه‌سبز از فصلی به فصل دیگر دستخوش تغییراتی می‌شوند. افزایش و کاهش شدت عواملی نظیر درجه حرارت، خشکی و شوری موجب تغییر در فعالیت برخی آنزیمها می‌شود. گیاهان می‌توانند با تغییر در میزان فعالیت‌های آنزیمی، خود را با شرایط محیط سازگار نمایند. در این پژوهش روند تغییرات فعالیت پراکسیداز در طول یک‌سال در سرشاخه‌ها و برگ‌های گونه *Eucalyptus viminalis* مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور در پنج نوبت از سال از پایه‌های مطالعاتی نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌ها به‌خوبی ساییده و به نسبت یک به سه با محلول عصاره‌گیری مخلوط شدند. بعد از ۲۴ ساعت عمل سانتریفوژ انجام و عصاره آنزیمی استخراج شد. فعالیت کمی پراکسیداز برگ و شاخه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۳۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت. برای بررسی وجود یا عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین تغییرات فعالیت پراکسیداز بین فصل‌ها، داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار SPSS مورد تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که تغییرات فعالیت پراکسیداز در پایه‌های مختلف متفاوت بوده است. در اردیبهشت، تیر و دی‌ماه فعالیت پراکسیداز پایه‌ها نزدیک به هم بوده، ولی در شهریور و آبان‌ماه فعالیت پراکسیداز پایه‌ها اختلاف زیادی با یکدیگر داشتند. در تمامی پایه‌ها از اردیبهشت به تیر فعالیت پراکسیداز کاهش یافت و فعالیت پراکسیداز برگ در تمامی ماه‌ها بیشتر از فعالیت شاخه بود. روند تغییرات فعالیت پراکسیداز پایه‌ها در برخی از ماه‌ها دارای همبستگی معنی‌دار منفی بود ( $\alpha < 0.05$ ). هیچ‌گونه همبستگی معنی‌دار بین تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه مشاهده نشد. با استفاده از نرم‌افزار JMP پایه‌های مطالعاتی از نظر فعالیت پراکسیدازی به سه دسته طبقه‌بندی شدند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، اسپکتروفتومتر، پراکسیداز، تغییرات فصلی، *Eucalyptus viminalis*

### مقدمه

نتیجه ادامه حیات موجودات زنده را امکان‌پذیر می‌سازد. فقط تغییرات ظاهری برای مقابله با عوامل نامساعد کافی نیست. موجودات زنده باید از درون هم آمادگی قرار گرفتن در شرایط مختلف را داشته باشند. گیاهان و

شکل ظاهری گیاهان و جانوران تحت تأثیر زیستگاه و شرایط زیستی تغییر می‌نمایند. این تغییرات معمولاً برای سازگاری با عوامل نامساعد محیطی صورت می‌گیرد و در

آنها انجام شده است (ثاقب طالبی و دستمالچی، ۱۳۷۶؛ همتی، ۱۳۷۵). مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور نیز گونه‌های اکالیپتوس را با مبدأ مراکش و استرالیا در سالهای ۱۳۴۸ تا ۱۳۵۰ برای آزمایشهای سازگاری در کرانه‌های دریای خزر کشت نمود. غالب گونه‌های اکالیپتوس در برابر سرما مقاومت نداشتند، به‌همین دلیل بیشتر پایه‌های کاشته شده در گیلان نتوانستند در برابر سرما مقاومت کنند. ثاقب طالبی و دستمالچی (۱۳۷۶) با انتشار نتایج طرحهای سازگاری درختان غیر بومی در استان گیلان، *Eucalyptus viminalis* را به‌عنوان یکی از گونه‌های با زنده‌مانی و رویش زیاد معرفی کردند.

در این پژوهش از پراکسیداز به‌دلیل حساس بودن به تنشهای محیطی استفاده شده است و هدف از پژوهش حاضر، بررسی روند تغییرات فعالیت پراکسیداز در برگ و سرشاخه‌های *E. viminalis* طی فصل‌های مختلف است، بنابراین با مقایسه میزان فعالیت و تغییرات فعالیت پراکسیداز در پایه‌های مختلف طی فصول، می‌توان پایه‌هایی را که دارای فعالیت بیشتر و تغییرات کمتری هستند برای تکثیر معرفی نمود تا شرایط محیط را بهتر تحمل نمایند.

### مواد و روشها

محل نمونه‌برداری، قطعات سازگاری اکالیپتوس در استان گیلان و در دو قطعه عنبران محله آستارا ( $38^{\circ}30'$  عرض شمالی و  $48^{\circ}30'$  طول شرقی) و قطعه سراوان رشت ( $37^{\circ}5'$  عرض شمالی و  $49^{\circ}40'$  طول شرقی) انتخاب شده است. منطقه عنبران محله آستارا دارای متوسط بارندگی سالانه برابر  $1210/5$  میلی‌متر، حداقل مطلق درجه حرارت ( $-12/5$ ) درجه سانتی‌گراد، حداکثر مطلق درجه حرارت  $38/5$  درجه سانتی‌گراد و اقلیم مرطوب با زمستانهای خنک در سیستم آمبرژه می‌باشد. منطقه سراوان رشت دارای متوسط بارندگی سالانه  $1390$

جانوران در زمان بروز چنین شرایطی از نظر فیزیولوژیکی دستخوش تغییراتی می‌شوند. کاهش و یا افزایش فعالیت‌های آنزیمی یکی از راههای مقابله و یا تحمل تنشهاست. در مناطق معتدله که دارای فصل‌های مشخص می‌باشند، همزمان با تغییرات تدریجی درجه حرارت، لازم است گیاه خود را با این تغییرات سازگار نماید. سازگاری می‌تواند با تغییر در فعالیت بسیاری از متابولیتها و نیز آنزیم‌های مختلف نظیر کاتالاز، آمیلاز و پراکسیداز امکان‌پذیر باشد.

Castillo (1986) نشان داد که پراکسیداز حساس‌ترین آنزیم گیاهی نسبت به تنشهای محیطی است. Korori et al. (1992) با بررسی سرشاخه‌های *Larix decidua* نشان دادند که فعالیت پراکسیداز در فصل‌های مختلف سال یکسان نبوده و در فصل سرما چندین برابر فصل گرما بوده است. همچنین در یک بررسی دیگر مشخص شد که میانگین فعالیت پراکسیداز گیاهان در طول ظهور برگهای جدید کم بوده است (Purvis & Shewtel, 1993).

بررسی رابطه بین فعالیت پراکسیداز و چوبی شدن آوند آبکش در ساقه گونه‌های کاج، نونل و غان در طول فصل رویش نشان داد که فعالیت پراکسیداز در شروع دوره رشد و چوبی شدن افزایش می‌یابد (Marjamaa et al., 2003).

براساس نتایج مطالعات (Han et al., 2004)، افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در *Cryptomeria japonica* طی فصل زمستان، برای جبران کاهش در میزان کل فعالیت آنزیم‌ها در دمای پایین است. میزان فعالیت آمیلاز در سرشاخه‌های *Fagus orientalis* طی دوره رشد افزایش ولی میزان فعالیت کاتالاز و پراکسیداز کم بوده است. فعالیت پراکسیداز و کاتالاز این گونه طی ماههای تیر تا آبان افزایش یافته، درحالی‌که هم‌زمان فعالیت آمیلاز کاهش یافته است (Zolfaghary et al., 2005).

گونه‌های اکالیپتوس بیش از ۵۰ سال است که به ایران وارد شده و بیش از ۳۰ سال پژوهشهایی برای سازگاری

پراکسیداز از روی میانگین فعالیت در ۴ دقیقه محاسبه شد.

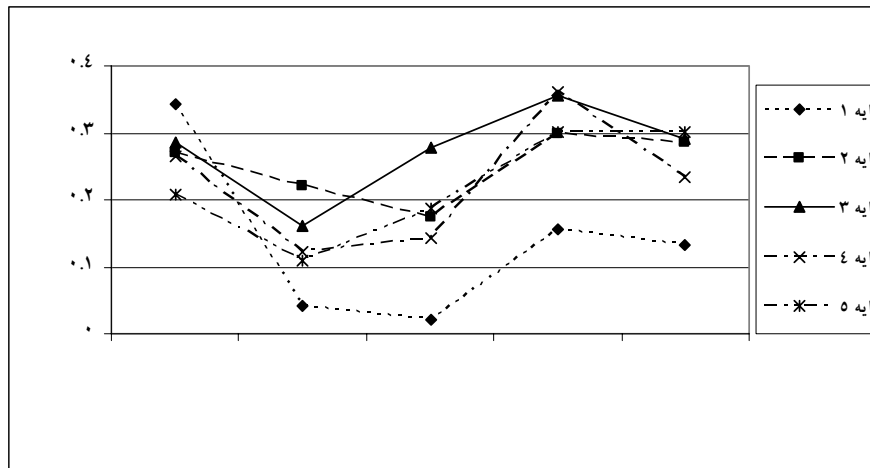
روند تغییرات پراکسیداز جهت وجود یا عدم وجود همبستگی بین ماههای مختلف طبق روش پیرسون، با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. همچنین با استفاده از نرم‌افزار JMP و به روش Centroid پایه‌ها براساس فعالیت آنزیمی به سه دسته تفکیک شدند.

### نتایج

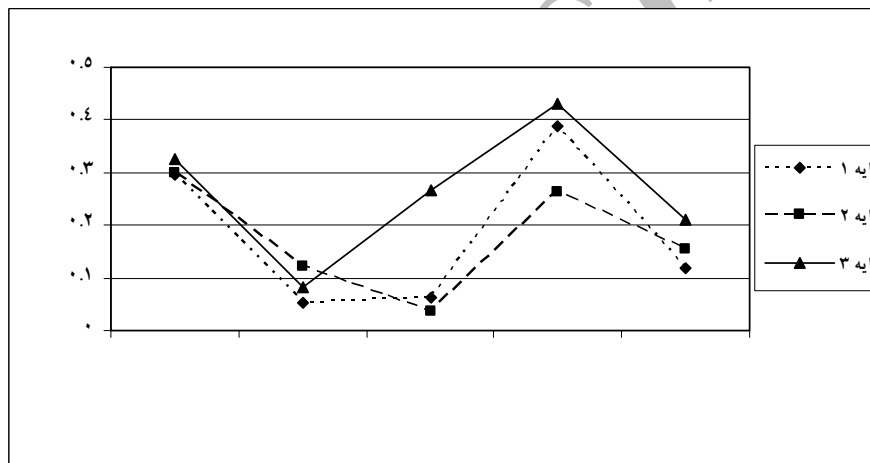
پاسخ پایه‌های مورد مطالعه نسبت به تغییرات فصلی یکسان نبود، برخی از پایه‌ها دارای فعالیت پراکسیدازی بیشتر و بعضی فعالیت کمتری داشتند. برای مثال، بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه در پایه ۳ سراوان اتفاق افتاد. روند تغییرات فعالیت پراکسیداز در برگ و شاخه پایه‌های مورد بررسی، به‌طور تقریبی مشابه بود، به‌طوری‌که فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه در تمام پایه‌ها از اردیبهشت به تیر کاهش یافته است. در ماههای اردیبهشت، تیر و دی فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه در پایه‌ها تقریباً نزدیک به هم بود، درحالی‌که در شهریور و آبان فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه پایه‌ها فاصله زیادی از هم داشتند (شکل‌های ۱ تا ۴). بررسی فعالیت پراکسیداز برگ، تغییرات همسویی را در دو منطقه مطالعاتی نشان داد. بررسی فعالیت پراکسیداز شاخه نیز نشان دهنده تغییرات مشابه در دو قطعه عنبران و سراوان بود.

میلی‌متر، حداقل مطلق درجه حرارت (۱۸-) درجه سانتی‌گراد، حداکثر مطلق درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد و اقلیم خیلی مرطوب با زمستانهای خنک در سیستم آمبرژه می‌باشد (ثاقب‌طالبی و دستمالچی، ۱۳۷۶). زمان نمونه‌برداری ماههای اردیبهشت، تیر، شهریور، آبان و دی بوده است. نمونه‌برداری از برگ‌ها و سرشاخه‌های ۸ پایه اکالیپتوس (۵ پایه در سراوان رشت و ۳ پایه در عنبران محله آستارا) با شرایط یکسان (قطر، ارتفاع، جهت تابش خورشید و فقدان شکستگی یا چنگالی بودن) انجام شد. نمونه‌ها تحت شرایط ثابت به آزمایشگاه منتقل و براساس روشهای زیر، استخراج عصاره آنزیمی و سنجش فعالیت پراکسیداز انجام شد.

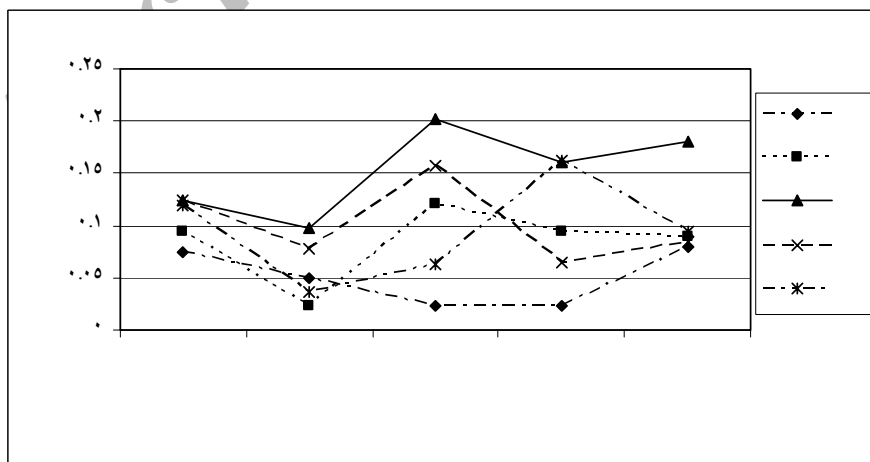
ابتدا ۲ گرم از نمونه مورد نظر به‌خوبی در هاون ساییده و بعد با ۶ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری (شامل: ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم آسکوربیک اسید، ۳/۸ گرم  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 10 \text{H}_2\text{O}$ ، ۳/۶ گرم  $\text{NaCl}$  و ۲ گرم EDTA-Na و ۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول که با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسیده‌اند) مخلوط شد. بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند و از محلول رویی آن برای سنجش استفاده شد. ۴۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی استخراج شده به همراه ۲ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۱ مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر  $\text{H}_2\text{O}_2$  ۰/۳٪ و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزدین ۰/۰۱ مولار مخلوط و فعالیت پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، براساس روش (Worthington 1972) در طول موج ۵۳۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت



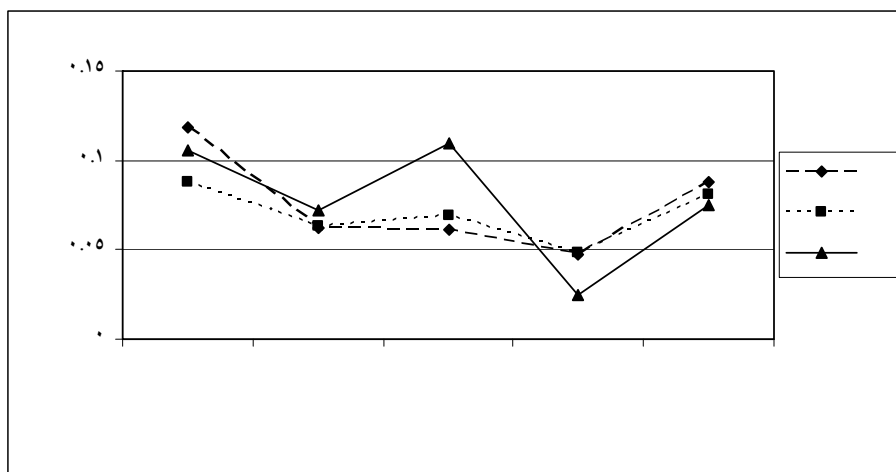
شکل ۱- تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ در پایه‌های قطعه سراوان در ماههای مطالعه



شکل ۲- تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ در پایه‌های قطعه آستارا در ماههای مطالعه



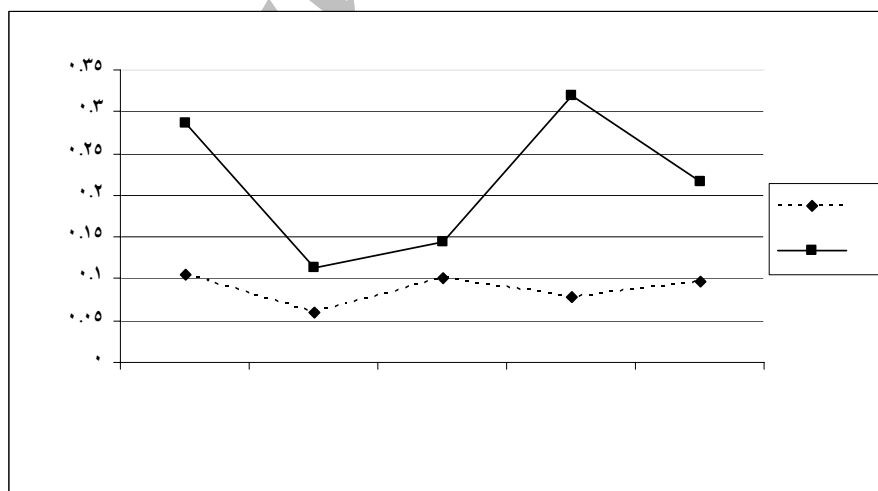
شکل ۳- تغییرات فعالیت پراکسیداز شاخه در پایه‌های قطعه سراوان در ماههای مطالعه



شکل ۴- تغییرات فعالیت پراکسیداز شاخه در پایه‌های قطعه آستارا در ماههای مطالعه

کم‌شونده بود. میانگین فعالیت در شاخه نسبت به برگ، حدود تغییرات کمتری را طی ماههای مختلف نشان می‌دهد. میزان فعالیت پراکسیدازی در نمونه‌های برگ و شاخه یکسان نبود. میانگین فعالیت پراکسیدازی برگ در تمام ماههای مطالعه و در هر دو منطقه از میانگین فعالیت شاخه بیشتر بود (شکل ۵).

مقایسه میانگین تغییرات فعالیت پایه‌ها نشان داد که کمترین میزان فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه در تیرماه اتفاق افتاده است. روند تغییرات میانگین فعالیت برگ و شاخه از تیر تا شهریور مشابه بود. از شهریور تا آبان میانگین فعالیت پراکسیداز برگ افزایش داشت، این در حالی است که میانگین فعالیت شاخه در این زمان



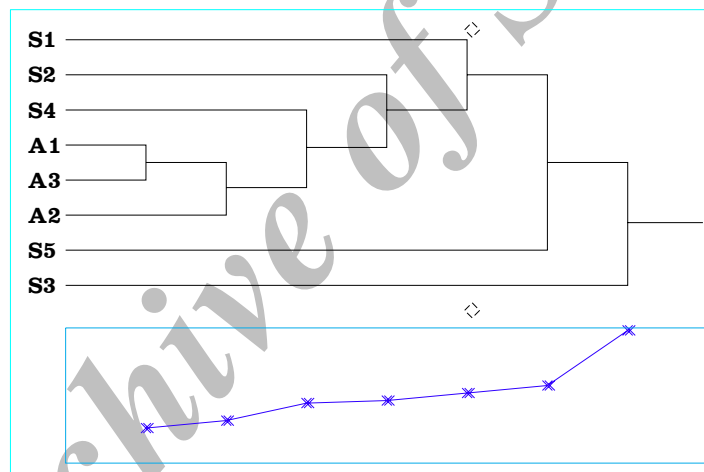
شکل ۵- مقایسه میانگین تغییرات پراکسیداز برگ و شاخه در پایه‌ها طی ماههای مطالعه

S3 و کمترین فاصله بین پایه‌های A1 و A3 وجود دارد (جدول ۱ و شکل ۶).

با استفاده از نرم‌افزار JMP و به روش Centroid بارش دندروگرام در فاصله ۲/۵۵، پایه‌ها در سه گروه مختلف قرار گرفتند و بیشترین فاصله بین پایه‌های S1 و

جدول ۱- فاصله پایه‌های مطالعاتی براساس فعالیت آنزیمی به روش Centroid

| Hierarchical Clustering, Method =Centroid |              |         |        |
|---|--------------|---------|--------|
| Clustering History                        |              |         |        |
| Number of Clusters                        | Distance     | Leader* | Joiner |
| 7   | 1.3078810061 | A1      | A3     |
| 6   | 1.5318764467 | A1      | A2     |
| 5   | 2.1387267566 | S4      | A1     |
| 4   | 2.2748672933 | S2      | S4     |
| 3   | 2.545118036  | S1      | S2     |
| 2   | 2.8069221485 | S1      | S5     |
| 1   | 4.7639567437 | S1      | S3     |



شکل ۶- طبقه‌بندی خوشه‌ای پایه‌های مطالعاتی براساس فعالیت آنزیمی

S5 S1

A3 A1

( $\alpha < 0/05$ ). همبستگی معنی‌داری در تغییرات فعالیت پراکسیداز در ماههای دیگر مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ و تغییرات فعالیت پراکسیداز شاخه مشاهده نشد.

تغییرات فعالیت برگ در تمام پایه‌ها از آبان به دی با تغییرات از شهریور به آبان همبستگی معنی‌دار منفی داشتند ( $\alpha < 0/05$ ). تغییرات فعالیت شاخه پایه‌ها نیز از آبان به دی با تغییرات از شهریور به آبان همبستگی منفی داشت، درحالی‌که تغییرات در شاخه از آبان به دی با تغییرات از اردیبهشت به تیر همبستگی مثبت نشان داد

جدول ۲ - همبستگی میزان تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه در ماههای مطالعه

| Pearson |       |
|---------|-------|
| / *     | _____ |
| / *     | / *   |

\*:

## بحث

نتایج به طور کلی نقش پراکسیداز را در اعمال متابولیسمی و تغییرات فیزیولوژیک *E. viminalis* نشان می‌دهد.

در فصل گرم (تیر)، پایه‌های مورد مطالعه فعالیت پراکسیدازی مشابه و نزدیک به هم نشان داده‌اند. اغلب گونه‌های اکالیپتوس نسبت به سرما حساس هستند و شرایط گرم، خشک و شور را بهتر تحمل می‌نمایند. با توجه به آن که شرایط دمایی منطقه مورد مطالعه طی مدت اجرای تحقیق، موجب بروز هیچ تنش گرمایی در اکالیپتوسها نشده است، بنابراین شرایط محیطی در این منطقه و در این فصل عادی می‌باشد.

مقاومت پایه‌های مختلف اکالیپتوس به سرما متفاوت است (علی‌احمدکرووری و همکاران، ۱۳۸۰). با پایین آمدن درجه حرارت از شهریور تا آبان، فعالیت پراکسیدازی پایه‌ها اختلافهای بیشتری داشته‌اند که این می‌تواند به دلیل حساسیت اکالیپتوسها به سرما و تفاوت در سازگاری پایه‌های مختلف نسبت به سرما باشد. مطالعات دیگر در مورد گونه‌های دیگر نیز نشان داده است که تغییرات فعالیت پراکسیدازی درختان افرای شبه‌چناری *Acer pseudoplatanus* در آغاز فصل سرما یکنواخت و همزمان نبوده است (علی‌احمدکرووری، ۱۳۷۸). پرهیزکار و همکاران (۱۳۸۱) نشان دادند تحت تیمارهای دمایی، پایه‌هایی از یک گونه که در فصل سرما دارای فعالیت پراکسیدازی بیشتری هستند، در برابر تیمار دمای پایین مقاومت بیشتری نسبت به سایر پایه‌ها از خود نشان می‌دهند. نحوه واکنش پایه‌های مطالعاتی به تغییرات فصلی در این پژوهش نیز یکسان نبوده است، به طوری که

بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین فعالیت پراکسیداز طی ماههای مختلف در پایه ۳ سراوان بوده است. با توجه به دندروگرام (جدول ۱) پایه‌های S1، S2، S4، A1، A2 و A3 دارای فعالیتهای پراکسیدازی مشابه (نزدیک به هم) می‌باشند. همان‌طور که در دندروگرام مشاهده می‌شود پایه S3 در یک خوشه جدا و با فاصله آشکار از سایر پایه‌ها قرار دارد، مقایسه فعالیت پراکسیداز پایه‌ها، بیشترین میزان فعالیت را در پایه S3 نشان می‌دهد که می‌تواند دلیل قانع کننده‌ای برای شکل دندروگرام باشد. بر این اساس، پایه ۳ سراوان می‌تواند مقاومت بیشتری نسبت به سایر پایه‌ها در برابر درجه حرارت پایین داشته باشد.

طی سازگاری با سرما تغییرات زیادی در عوامل فیزیولوژیک و شیمیایی سلولهای گیاهی رخ می‌دهد که منجر به حفظ سلول در مقابل آسیبهای ناشی از سرما می‌شود (Tabaei-Aghdaei et al., 2000). وقتی گیاهان در مقابل تنش سرمایی قرار می‌گیرند به دلیل اختلال در متابولیسم گیاه، تولید رادیکالهای اکسیژن مانند سوپراکسید ( $O_2^-$ )، هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) و هیدروکسیل ( $-OH$ ) افزایش پیدا می‌کند (رهنما، ۱۳۸۴). پراکسیداز قادر است ماده سمی آب‌اکسیژنه را که در فعالیتهای مختلف در بافتهای گیاهی تولید می‌شود، تجزیه کند (علی‌احمدکرووری و صالحی شانجانی، ۱۳۷۳؛ محقق شلمانی، ۱۳۸۱). افزایش فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه در ماههای سرد در این پژوهش نیز می‌تواند به دلیل تولید هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) در اثر سرما باشد.

تحقیقات انجام شده در مورد *Quercus robur* نشان داد که با تغییرات فصلی، فعالیت پراکسیداز تغییر می‌کند، به نحوی که در شروع فصل سرما بر فعالیت آن افزوده

سه نمونه مختلف شاخه، برگ و بذر متفاوت بوده و میزان فعالیتهای پراکسیدازی در نمونههای شاخه چندین برابر برگ و بذر است. در این پژوهش میزان فعالیت پراکسیدازی در نمونه برگ و شاخه متفاوت بوده است، ولی این میزان نشان دهنده فعالیت بیشتر نمونههای برگ، نسبت به نمونههای شاخه می باشد. فعالیت پراکسیداز تمام پایههای مورد مطالعه، طی دوره رویشی از اردیبهشت تا تیر کاهش داشته است. براساس مطالعات Zolfaghari et al. (2005) کاهش فعالیت پراکسیداز در *Fagus orientalis* نیز در تیر اتفاق افتاده است. البته شدت این کاهش در دو گونه متفاوت بوده است. در مجموع در هر دو گونه کاهش فعالیت پراکسیداز و یا دقیقتر کمترین میزان فعالیت در فصل تابستان اتفاق افتاده است.

مقایسه میانگین تغییرات پراکسیداز طی ماههای مورد مطالعه (شکل ۵) روند معکوسی را از شهریور به آبان نسبت به آبان به دی نشان می دهد، همبستگی منفی در این روند (جدول ۲) تأکیدی بر این مسئله است.

با استفاده از نتایج به دست آمده در این پژوهش و نتایج حاصل از پژوهشهای مشابه، می توان از این روش برای شناسایی پایههای مقاوم به تشنهای محیطی استفاده نمود. لازم به یادآوری است که برای شناسایی دقیقتر پایهها، لازم است که مطالعات تکمیلی (تنش در شرایط آزمایشگاهی) در کنار بررسیهای فصلی انجام شود. در ارتباط با این پژوهش، مطالعات در شرایط آزمایشگاه انجام شده است (پرهیزکار و همکاران، ۱۳۸۱)، ولی به دلیل این که در آن زمان هنوز مطالعات فصلی به اتمام نرسیده بود، امکان ارائه نتایج بررسیهای فصلی و نتایج بررسیهای آزمایشگاهی در یک مقاله مقدور نبوده است.

### سیاسگزاری

بدین وسیله بر خود لازم می دانیم که از آقایان مهندس مصطفی خوشنویس و دکتر انوشیروان شیروانی به پاس زحمات بی دریغشان و همچنین از تمامی عزیزانی که

می شود (علی احمدکرووری، ۱۳۷۸). بررسی نمونههای برداشت شده از سرشاخههای شاه بلوط هندی (*Aesculus hippocastanum*) در مرداد، شهریور و آذر نشان می دهد که با نزدیک شدن فصل سرما فعالیت پراکسیداز افزایش یافته و در آذر فعالیت پراکسیداز چند برابر تابستان بوده است، ولی مقدار آن اندکی نسبت به شهریور کاهش یافته است (علی احمدکرووری، ۱۳۷۸). در پژوهش حاضر، میزان فعالیت پراکسیداز شاخه در زمستان بیشتر از تابستان بوده و در دی و آبان اندکی کمتر از شهریور می باشد. فعالیت پراکسیدازی برگ *E. viminalis* نیز در فصل سرد بیشتر از تابستان بوده، ولی برخلاف شاخه، در آبان نسبت به شهریور افزایش فعالیت پراکسیداز را نشان می دهد که ممکن است به دلیل حساسیت بیشتر برگ نسبت به شاخه *E. viminalis* در برابر سرما باشد. در اکالیپتوسها برگها در اثر یک تنش سرمای زمستانه خشک می شوند، این در حالی است که شاخه سالم مانده و در سال بعد جوانههای برگهای جدید را فعال می سازد.

با شروع دوره سرما از آبان تا دی، فعالیت پراکسیداز در سرشاخههای پایههای مورد مطالعه افزایش داشته است. (Han et al. (2004) افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان را در *Cryptomeria japonica* در فصل زمستان دلیلی برای جبران کاهش در میزان کل فعالیتهای آنزیمها در دمای پایین اظهار کردند.

بنا بر نظر Zolfaghari et al. (2005) افزایش فعالیت پراکسیداز در سرشاخههای راش در آبان ناشی از آماده شدن درخت برای خواب زمستانه است. از آنجایی که اکالیپتوس یک گونه همیشه سبز است، بنابراین می توانیم افزایش فعالیت پراکسیداز را از آبان تا دی به دلیل شروع دوره سرما و آماده شدن پایهها برای تحمل این شرایط ذکر نماییم.

علی احمدکرووری (۱۳۷۸) نحوه واکنش قسمتهای مختلف *Larix europea* را تحت تیمارهای مختلف دمایی بررسی کرد. نتایج نشان داد که میزان فعالیتهای آنزیمی در



- محقق شلمانی، م.، ۱۳۸۱. مطالعه نحوه عکس‌العمل درختان کنار، حرا و بلوط به تنش‌های زیست محیطی در شرایط آزمایشگاهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد واحد علوم و تحقیقات تهران دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۰۶ صفحه.
- همتی، ا.، ۱۳۷۵. نتایج نهایی سازگاری گونه‌های اکالیپتوس و آکاسیا در کرمانشاه (قصرشیرین). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، شماره ۱۵۲، ۶۴ صفحه.
- Castilo, F.J., 1986. Exteracellular prooxidase as marker of stress. In: Greppin, H., Penel, C. and Gaspar, T. (eds), Molecular and physiological aspects of plant peroxidase. University of Geneva, Geneva: 419 - 426.
- Han, Q., Katahata, S., Kakubari, Y. and Mukai, Y., 2004. Seasonal changes in the xanthophyll cycle and antioxidants in sun-exposed and shaded parts of the crown of *Cryptomeria japonica* in relation to rhodoxanthin accumulation during cold acclimation. *Tree physiol*, 24(6): 609-616.
- Korori, S.A.A., Hinter Stoisser, B., Long, H. and Eberman, R., 1992. Seasonal alteration of plant peroxidase isoenzyme pattern in *Larix deciduas*. *Phyton*, 32: 307-313.
- Marjamaa, K., Lehtonen, M., Lundel, T., Toikka, M., Saranpaa, P. and Fagerstedt, K. V., 2003. Developmental signification and seasonal variation in beta-glycosidase and peroxidase activities in xylem of Scots pine, Norway spruce and silver birch. *Tree physiol*, 23(14): 977-986.
- Purvis, A. C. and Shewtel, R. L., 1993. Dose the alternative pathway ameliorates chilling injury in sensitive plant tissues? *Physiologia Plantarum*, 88(4): 712-718.
- Tabaei-Aghdaei, S.R., Harrison, P. and Pearce, R.S., 2000. Expression of dehydration-stress-related genes in the crown of wheat grass species and *Agropyron repens* L. having contrasting to salt, cold and drought. *Plant, Cell and Environment*, 23: 561-571.
- Worthington, C.C., 1972. Worthington Enzyme Manual. Worthington biochemical crop., freehold, NJ. 216 p.
- Zolfaghari, R., Korori, S.A.A. and Etemad, V., 2005. Changes in the activity of Amylase, Peroxidase and Catalase in beech (*Fagus orientalis* Lipsky) during dormancy and growing. *Acta Biologica Hungarica*, 56 (34): 305-311.

به‌نحوی در اجرای این پژوهش ما را یاری کرده‌اند سپاسگزاری نماییم. لازم به یادآوری است که این پژوهش با همکاری و حمایت مالی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شده است.

### منابع مورد استفاده

- پرهیزکار، پ.، علی‌احمدکرووری، س.، مراقبی، ف. و عادل، ا.، ۱۳۸۱. آنزیم پراکسیداز آنزیمی جهت یافتن پایه‌های مقاوم. فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۵۶ و ۵۷: ۴۴-۴۷.
- ثاقب‌طالبی، خ. و دستمالچی، م.، ۱۳۷۶. تحقیقات سازگاری درختان غیر بومی در استان گیلان. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، شماره ۱۶۸، ۱۳۶ صفحه.
- رهنما، ح.، ۱۳۸۴. سازش فیزیولوژیکی و مولکولی گیاهان به سرما: راه‌کارهای مهندسی ژنتیک برای تحمل سرما. مجموعه مقالات همایش علمی- کاربردی راه‌های مقابله با سرمازدگی. انتشارات حوزه ترویج و نظام بهره‌برداری سازمان جهاد کشاورزی استان یزد. ۳۸۸ صفحه.
- علی‌احمدکرووری، س.، ۱۳۷۸. مجموعه مقالات بررسی نحوه پاسخ آنزیمها در درختان جنگلی به تغییرات عوامل زیست محیطی. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، شماره ۲۰۸، ۳۶۵ صفحه.
- علی‌احمدکرووری، س. و صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۷۳. اثر تغییرات درجه حرارت و فصل بر روی فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و آمیلاز در گونه *Picea abies*. فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۵۹-۵۶: ۲۴.
- علی‌احمدکرووری، س.، مراقبی، ف. و پرهیزکار، پ.، ۱۳۸۰. نحوه جداسازی پایه‌های مقاوم به سرما در درختان اکالیپتوس با استفاده از پراکسیداز. دومین همایش ملی بیوتکنولوژی، کرج.

## Seasonal alteration of peroxidase in branch and leaves of *Eucalyptus viminalis* Labill.

P. Parhizkar<sup>1\*</sup>, S.A.A. Korori<sup>2</sup>, F. Moraghebi<sup>3</sup>, M. Teimouri<sup>4</sup>, Y. Torabian<sup>5</sup> and N. Manouchehri<sup>6</sup>

1\*- Corrsponding author, Ph.D. Candidate of Forestry. Tehran Azad Islamic University. Research and Science Branch. E-mail: parhizkar@rifr-ac.ir

2- Associate Prof. Research Institute of Forests and Rangelands.

3- Assistant Prof. Azad Islamic University. Shahr-e-Rey branch.

4- Senior Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands.

5- Senior expert, Azad Islamic University. Lahijan branch.

6- M.Sc. of Forestry, Faculty of Natural resources. Tehran University.

### Abstract

The morphology of deciduous plants changes seasonally. In addition, deciduous and ever-green plants encounter with internal changes as a consequence of seasons. Enzymes activities alter with changes of temperature, drought and salinity. Plants adapt to environmental changes with alteration of enzymes activities. In this study, the peroxidase activity was measured in leaves and shoots of *Eucalyptus viminalis* during a year. Peroxidase activity was measured by spectrophotometer (530 nm) by use of Worthington method. Data were analyzed to determine statistical relationship in peroxidase activity of individual trees and seasonal changes of enzyme activity by SPSS software. Results showed that peroxidase activity was different in individual trees. The difference of peroxidase activity in different individual trees was little in April, July and January but differences were higher in September and November. The peroxidase activity decreased in all individual trees from April to July. Peroxidase activity of leaves was higher than those of branches in all of studied months. There was negative correlation between some month of peroxidase activity ( $\alpha < 0.05$ ). There was not any correlation between leaves and branches peroxidase activity. Individuals were classified to three classes according to their peroxidase activities using JMP software (centroid method).

**Key words:** enzyme, *Eucalyptus viminalis*, peroxidase, spectrophotometer, seasonal alternation.