دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۰، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۷۲-۲۶۱ (۱۳۹۱)

مقایسه سطوح پراکسیدازی و کاتالازی کلن‌های مختلف *Populus euramericana*

زهره سعیدی[۱] و داوود آزادفر[۲]

۱-*نویسنده مسئول مکاتبات، دانشجوی دکترای علوم جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
پست‌الکترونیک: @gmail.comsaeedizohre

۲- دانشیار، بیوتکنولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰٤/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۱

چکیده

صنوبر اروآمریکانا از گونه‌های مهم زراعت چوب در کشور ما به‌شمار می‌رود. امروزه کلن‌های متعددی از این گونه غیر بومی وارد کشور شده است اما تفاوت‌های فردی آنها از نظر فیزیولوژیک برای ما ناشناخته و مهم می‌باشد. هدف این تحقیق تعیین تفاوت‌های پنج کلن مختلف آن از نظر دو آنزیم مهم گیاهی شامل پراکسیداز و کاتالاز به‌عنوان بیونشانگرهای محیطی از اواخر تابستان تا اوایل بهار است. بدین منظور مطالعات کمی آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری بر روی نهال‌های حاصل از تکثیر غیرجنسی آنها انجام شد. بیشترین تفاوت کلن‌ها از نظر سطوح پراکسیدازی در اسفندماه و از نظر سطوح کاتالازی در دی‌ماه مشاهده شد. همچنین روند تغییرات پراکسیداز کلن‌ها از آبان تا اسفندماه عکس کاتالاز بود. به‌طورکلی نتایج نشان داد که فعالیت پراکسیداز کلن ٤٥/٥١ در انتها و آغاز فصل رویش و همچنین فعالیت هر دو آنزیم کلن‌های ٥٦١/٤١ و I٢١٤ در ماههای سرد سال با سایر کلن‌ها دارای بیشترین تفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: صنوبر اروآمریکانا، پراکسیداز، کاتالاز، کلن.

مقدمه

گیاهان برای مقابله با عوامل نامساعد محیطی، علاوه بر تغییرات در شکل ظاهری، تغییراتی از درون نیز خواهند داشت و باید از درون هم آمادگی قرار گرفتن در شرایط مختلف را داشته باشند. کاهش یا افزایش فعالیت‌های آنزیمی یکی از راه‌های مقابله و یا تحمل تنش‌هاست. در مناطق معتدله که دارای فصل‌های مشخص می‌باشند، همزمان با تغییرات تدریجی دما، لازم است گیاه خود را با این تغییرات سازگار نماید (Parhizkar *et al.*, 2009). تحقیقات نشان داده که آنزیم‌ها حساسترین عامل تغییرات فیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش‌های محیطی محسوب می‌شوند (Ali Ahmad ؛ Korori, 1993؛ Schittenhelm *et al.*, 2006 ؛ Ali Ahmad Korori & Salehi, 1994). گیاهان به‌منظور محدود کردن صدمات ناشی از استرس‌های خشکی، نور و دما یک سری از سیستم‌های سم‌زدایی شامل آنزیم‌ها مانند پراکسیداز، آسکوربیک پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و غیره

Archive of SID

www.SID.ir

را توسعه داده‌اند (Polle, 2002, Chakraborty & Tongden, 2005). تغییرات فعالیت و الگوهای ایزوآنزیمی پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در برگ‌های سوزنی گونه *Picea omrika* توسط بوگدانوویک و همکاران مطالعه شد و نتایج مطالعات نشان داد که تغییرات فصلی بر روی فعالیت آنزیم‌ها و الگوی ایزوآنزیم‌ها اثرگذار است و کمترین میزان پروتئین‌های ذکر شده در تابستان گزارش گردید (Bogdanovic *et al.*, 2007). همچنین نتایج مطالعه بر روی سرشاخه‌های *Larix decidua* نشان داد که فعالیت پراکسیداز در فصول مختلف سال متفاوت بوده و در فصل سرما چندین برابر بیشتر از فصل گرماست (Ali Ahmad Korori *et al.*, 1994). آنزیم پراکسیداز از گروه آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز بوده که قادر است ماده سمی آب اکسیژنه را که در تمام فرایندهای مختلف سلولی تولید می‌شود تجزیه کند (Ali Ahmad Korori, 1999). حداکثر فعالیت این آنزیم در فصول سرد سال و حداقل آن در تابستان است (Bogdanovi *et al.*, 2007, Monerri & Guardiola, 2001). تحقیقات (Zolfaghari *et al.*, 2005) بر روی سرشاخه‌های *Fagus orientalis* نشان داد که میزان فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در طی دوره رشد کم بوده و فعالیت این دو آنزیم طی ماه‌های تیر تا آبان افزایش یافته است.

آنزیم کاتالاز نیز جزء اکسیدوردوکتازها بوده و مانند پراکسیداز قادر است ماده سمی آب اکسیژنه را تجزیه کند، این آنزیم وقتی وارد عمل می‌شود که ماده سمی آب اکسیژنه در محیط زیاد باشد (Ali Ahmad Korori, 1999). تحقیقات علمی زیادی نشان می‌دهند که تغییرات دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز هم جهت باهم صورت نمی‌گیرد (Bogdanovi *et al.*, 2007, Gechev *et al.*, 2003, Okane *et al.*,1995). همچنین اخیراً مقاله‌ای در خصوص جایگزینی همی پروتئین‌ها با یکدیگر نوشته شده است که می‌تواند تأییدی بر این مطلب باشد (Korori *et al.*, 1994). تحقیقات نشان داده است که در روند تغییرات فیزیولوژیک گیاهان میزان پراکسیداز و کاتالاز باید به صورت معادله a =پراکسیداز + کاتالاز باشد. به عبارت دیگر a یک مقدار تقریباً ثابت است و افزایش یک آنزیم موجب کاهش آنزیم دیگر می‌شود و بعکس (Ali Ahmad Korori, 1999). در تحقیقی تغییرات فصلی در فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدهای سوپراکسیدازدیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در برگ‌های *Sabina przewalskii* مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از برگ‌های این گونه به طور ماهانه از تابستان ۲۰۰٤ تا بهار ۲۰۰۵ انجام شد. فعالیت آنزیم‌ها با کاهش دما در پاییز و زمستان افزایش یافت. بالاترین میزان آن در زمستان بود و مقاومت به یخ‌زدگی در برگها مرتبط با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تشخیص داده شد (Chen *et al.*, 2005).

صنوبر به دلیل سرعت رشد بالا، بازدهی کوتاه مدت، شناخت کشاورزان و وجود رویشگاه‌های مناسب، یکی از گونه‌های بدون رقیب در برنامه توسعه تولید چوب است (Souleres, 2007). به‌طوری‌که زراعت چوب این گونه یکی از راه‌های مؤثر در کاهش فشار بر جنگل‌های طبیعی بوده و با اجرای برنامه راهبرد ملی کاشت مانند مطالعات ژنتیکی به‌منظور پدید آوردن دورگ‌ها و کلن‌های مقاوم به شرایط آب و هوایی متفاوت و تولید چوب بیشتر در مدت زمان کوتاهتر می‌توان در بالا بردن سطح تولید و اقتصاد کشور تأثیر زیادی گذاشت. گونه *Populus euramericana* هیبریدی از دو گونه *Populus nigra* (نر) × *Populus deltoides* (ماده) تشکیل شده و بخش اساسی صنوبرهایی

Archive of SID

www.SID.ir

است که مدت زیادی، به صنوبرهای زراعی مشهور بوده است (Souleres, 2007). هدف این مطالعه تعیین تفاوت‌های فیزیولوژیک پنج کلن مختلف گونه اروامریکانا از نظر شروع و پایان فصل رویش و واکنش‌های آنها به دمای پایین به کمک سطوح پراکسیدازی و کاتالازی است.

مواد و روش‌هاابتدا پنج کلن موجود در جنگل تحقیقاتی شصت کلاته گرگان شامل P.e 561.41, P.e 45.51, P.e 476, P.e 488, P.e I214 که از کشور ترکیه وارد شده‌اند به روش غیرجنسی قلمه شاخه به تعداد ۱۰۰ اصله در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع حدود ۳۰ سانتی‌متر در نهالستان تولید نهال شدند. سپس خاک گلدان‌ها شامل ترکیبی از خاک سیاه جنگلی، خاک‌برگ و ماسه بادی با نسبت ۱:۱:۱ بود که کاملاً نرم شده و بعد از الک شدن و همگن‌سازی در گلدان‌ها ریخته شدند. پرورش نهال‌ها در محیطی مشابه موجب تأثیر یکسان عوامل محیطی بر تمامی کلن‌ها گردید و توانایی‌های فیزیولوژیک متفاوت کلن‌ها در چنین شرایطی متأثر از عوامل ژنتیکی و سرشت کلن‌هاست. کلیه عملیات نگهداری شامل وجین علف‌های هرز و آبیاری در زمان‌های مناسب و به‌طور یکسان برای پنج کلن انجام گردید.

نمونه‌برداری از هر کلن بطور تصادفی از سه اصله نهال در پانزدهم پنج ماه مختلف سال شامل شهریور (۲۹درجه سانتیگراد)، آبان (۲۷ درجه سانتیگراد)، دی (۱۱ درجه سانتیگراد)، اسفند (۳ درجه سانتیگراد) و اردیبهشت (۲۰ درجه سانتیگراد) انجام شد؛ به‌طوری‌که نمونه‌هایی به قطر یک سانتی‌متر از قسمت انتهایی ساقه برداشت و بلافاصله در فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس نمونه‌ها بعد از ۱۰ دقیقه سایش روی یخ به نسبت ۱ به ۳ با محلول عصاره‌گیری توصیه شده توسط ابرمن و استیچ مخلوط شدند (Ebermann & Stich, 1982). این محلول شامل ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید اسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۳/٦ گرم نمک طعام، ۲ گرم EDTA-Na2 و ۵۰ گرم پلی‌اتیلن‌گلیکول به حجم یک لیتر بود. نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و از قسمت شفاف رویی برای مطالعه کمی هر دو آنزیم استفاده گردید. مطالعه کمی آنزیم‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۳۰ نانومتر برای آنزیم پراکسیداز و طول موج ۲٤۰ نانومتر برای آنزیم کاتالاز طبق روش ورتینگتون در حضور آب اکسیژنه انجام شد (Anonymous, 1972). داده‌های به‌دست آمده به کمک آنالیز واریانس و آزمون دانکن مقایسه و تیمارها توسط آنالیز خوشه‌ای دسته‌بندی شدند.

نتایج

فعالیت آنزیم پراکسیداز

همان‌طورکه در جدول ۱ مشاهده می‌شود کلن‌های مورد مطالعه نسبت به تغییرات فصلی پاسخ‌های متفاوتی را از خود نشان دادند، به‌طوری‌که میزان پراکسیداز پایه‌ها در ماه‌های مختلف با هم تفاوت معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان دادند. این میزان به‌ترتیب از بیشترین به کمترین در ماه‌های اسفند، اردیبهشت، آبان، دی و شهریور مشاهده شد (شکل ۱-الف). همچنین نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی این آنزیم حکایت از این مطلب دارد که بین کلن‌ها از نظر میانگین فعالیت کمی در پنج ماه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱ و شکل ۱- ب) ولی مقایسه دانکن فعالیت آنزیم کلن‌ها در ماه‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). بیشترین تفاوت

Archive of SID

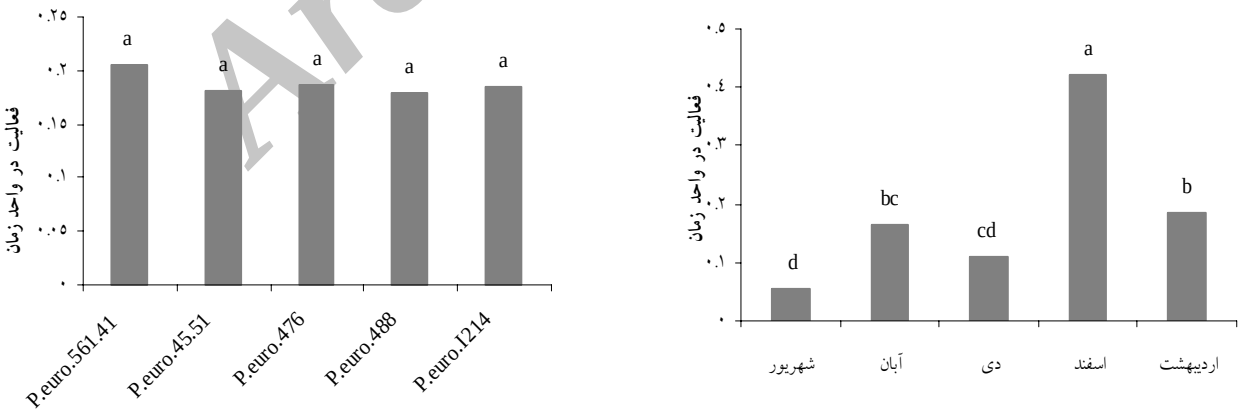
www.SID.ir

کلن‌ها در سردترین ماه مورد مطالعه یعنی اسفندماه بود که کلن‌ها در چهار گروه متفاوت قرار گرفتند (جدول ۲). عکس این مطلب در آبان‌ماه بود که تمامی کلن‌ها دارای فعالیت مشابه بودند و در سه ماه دیگر کلن‌ها هر یک به دو گروه متفاوت تقسیم شدند که بعضی از گروه‌ها مشابه یکدیگر بودند. بررسی اثر متقابل نوع کلن و ماه‌های مورد مطالعه نشان داد که اثر معنی‌داری بین این دو عامل وجود نداشت (جدول ۱) و این بدان معنی است که روند تغییرات پراکسیداز برای کلن‌های مورد مطالعه در پنج ماه بررسی مشابه یکدیگر بود، به‌طوری‌که فعالیت پراکسیداز در تمام کلن‌ها از شهریور به آبان افزایش و سپس در دی‌ماه کاهش جزیی و با افزایش بسیار معنی‌داری در اسفندماه و دوباره کاهش در اردیبهشت‌ماه همراه بود (جدول ۲). کلن ٤٥/٥١ در شهریور دارای میزان پراکسیداز بیشتری از سایر کلن‌ها بود و در آبان تمامی کلن‌ها دارای میزان آنزیم مشابه بوده و در دی‌ماه فقط کلن ٤٨٨ دارای مقدار کمتر آنزیم نسبت به سایر کلن‌ها بود. اختلاف این میزان در اسفندماه بین کلن‌ها به بالاترین حد خود رسید، به‌طوری‌که کلن ٥٦١/٤١ دارای بیشترین مقدار، بعد کلن ٤٧٦ و I٢١٤ بطور مشترک و در گروه سوم کلن ٤٨٨ و کمترین مقدار را کلن ٤٥/٥١ به خود اختصاص دادند. همچنین در آخرین ماه مورد مطالعه فقط کلن ٤٥/٥١ دارای پراکسیداز بالاتری نسبت به سایر کلن‌ها بود (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی پراکسیداز کلن‌ها در پنج ماه مختلف

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
مدل	۳/۹٥٦	۲٥	۰/۱٥۸**
کلن	۰/۰۰٦	٤	۰/۰۰۲^{ns}
ماه	۱/۱۷۱	٤	۰/۲۹۳**
کلن × ماه	۰/۱٥۱	۱٦	۰/۰۰۹^{ns}
خطا	۰/٤٥۰	٥۰	۰/۰۰۹
کل	٤/٤۰٦	۷٤	

*و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ٥ و ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار



الف ب

شکل ۱- مقایسه میانگین فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز کلن‌ها: (الف) بین پنج ماه، (ب) بین پنج کلن

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه چند گانه فعالیت کمی پراکسیداز کلن‌ها در پنج ماه مورد مطالعه

شماره	کلن	میانگین	گروه
۱	٥٦۱/٤۱ (شهریور)	۰/۰٤٦	f
۲	٤٥/٥۱ (شهریور)	۰/۱۲٤	def
۳	٤۷٦ (شهریور)	۰/۰۳۹	f
٤	٤۸۸ (شهریور)	۰/۰۳۲	f
٥	I۲۱٤ (شهریور)	۰/۰۳٦	f
٦	٥٦۱/٤۱ (آبان)	۰/۱٥۸	def
۷	٤٥/٥۱ (آبان)	۰/۱٥۰	def
۸	٤۷٦ (آبان)	۰/۱۸۳	def
۹	٤۸۸ (آبان)	۰/۱۷۹	def
۱۰	I۲۱٤ (آبان)	۰/۱٥٤	def
۱۱	٥٦۱/٤۱ (دی)	۰/۱۱٦	def
۱۲	٤٥/٥۱ (دی)	۰/۱۱۷	def
۱۳	٤۷٦ (دی)	۰/۱۰۹	def
۱٤	٤۸۸ (دی)	۰/۰۸٤	ef
۱٥	I۲۱٤ (دی)	۰/۱۲۲	def
۱٦	٥٦۱/٤۱ (اسفند)	۰/٥٥٦	a
۱۷	٤٥/٥۱ (اسفند)	۰/۲۸۲	bcd
۱۸	٤۷٦ (اسفند)	۰/٤٤۸	ab
۱۹	٤۸۸ (اسفند)	۰/۳۹۷	abc
۲۰	I۲۱٤ (اسفند)	۰/٤۱٥	ab
۲۱	٥٦۱/٤۱(اردیبهشت)	۰/۱٤۷	def
۲۲	٤٥/٥۱ (اردیبهشت)	۰/۲۳٦	cde
۲۳	٤۷٦ (اردیبهشت)	۰/۱٥۱	def
۲٤	٤۸۸ (اردیبهشت)	۰/۲۰٦	def
۲٥	I۲۱٤ (اردیبهشت)	۰/۱۹۲	def

حروف همنام و غیرهمنام به‌ترتیب نشان‌دهنده گروه‌های مشابه و غیرمشابه هستند.

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت آنزیم کاتالاز

تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی کاتالاز کلن‌ها در ماه‌های مورد مطالعه نشان داد که از نظر سطح کلی فعالیت کاتالاز اختلاف معنی‌داری بین کلن‌ها وجود ندارد (جدول ۳) ولی مقایسات چندگانه دانکن اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد از این نظر بین کلن‌ها نشان داد، به‌طوری‌که کلن I۲۱٤ دارای بالاترین سطح و بعد کلن‌های ٥٦۱/٤۱، ٤۷٦ و ٤۸۸ و در پایین‌ترین سطح کلن ٤٥/٥۱ قرار گرفت (شکل ۲- ب). نتایج تجزیه و تحلیل، اختلاف در سطح ۱ درصد را بین ماه‌های مورد مطالعه نشان داد (جدول ۳). به‌طوری‌که میزان کاتالاز از شهریور تا دی افزایش یافته و بعد به سمت اردیبهشت‌ماه کاهش یافت (شکل ۲- الف). همچنین مقایسه دانکن فعالیت کاتالاز کلن‌ها در ماه‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ٤). به‌طوری‌که بیشترین اختلاف کلن‌ها از نظر میزان کاتالاز در دی و آبان‌ماه و کمترین اختلاف در شهریورماه مشاهده شد و اسفند و اردیبهشت‌ماه در بین این دو قرار گرفتند. بنابراین بررسی اثر متقابل نوع کلن و ماه‌های مورد مطالعه نیز نشان داد که اثر معنی‌داری بین این دو عامل وجود ندارد. این بدان معنی است که روند تغییرات کاتالاز کلن‌ها در طی ماه‌های مختلف مشابه بود (جدول ۳). کلن ٤۷٦ در شهریورماه دارای کمترین میزان کاتالاز بوده و سایر کلن‌ها بطور مشابه دارای مقادیر بیشتری بودند (جدول ٤). کلن‌ها در آبان‌ماه به‌ترتیب از بیشترین به کمترین مقدار شامل I۲۱٤، ٤۸۸، ٥٦۱/٤۱ و کلن‌های ٤٥/٥۱ و ٤۷٦ مشابه بودند. این رتبه‌بندی در دی‌ماه با کمی تغییر از بیشترین به کمترین به صورت I۲۱٤، ٥٦۱/٤۱، ٤۷٦ و کلن‌های ٤٥/٥۱ و ٤۸۸ به‌طور مشابه مشاهده شد. دوباره در اسفندماه مشابهت فعالیت کاتالاز کلن‌ها افزایش یافت و کلن I۲۱٤ همچنین دارای بیشترین مقدار و بعد کلن‌های ٤٥/٥۱ و ٤۸۸ بطور مشابه و کلن‌های ٥٦۱/٤۱ و ٤۷٦ بطور مشترک کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند و سرانجام در اردیبهشت‌ماه کلن ٤۷٦ دارای بیشترین مقدار و کلن‌های ٤۸۸ و I۲۱٤ بطور مشترک در رتبه بعدی و کلن‌های ٥٦۱/٤۱ و ٤٥/٥۱ در رتبه کمترین مقدار قرار گرفتند.

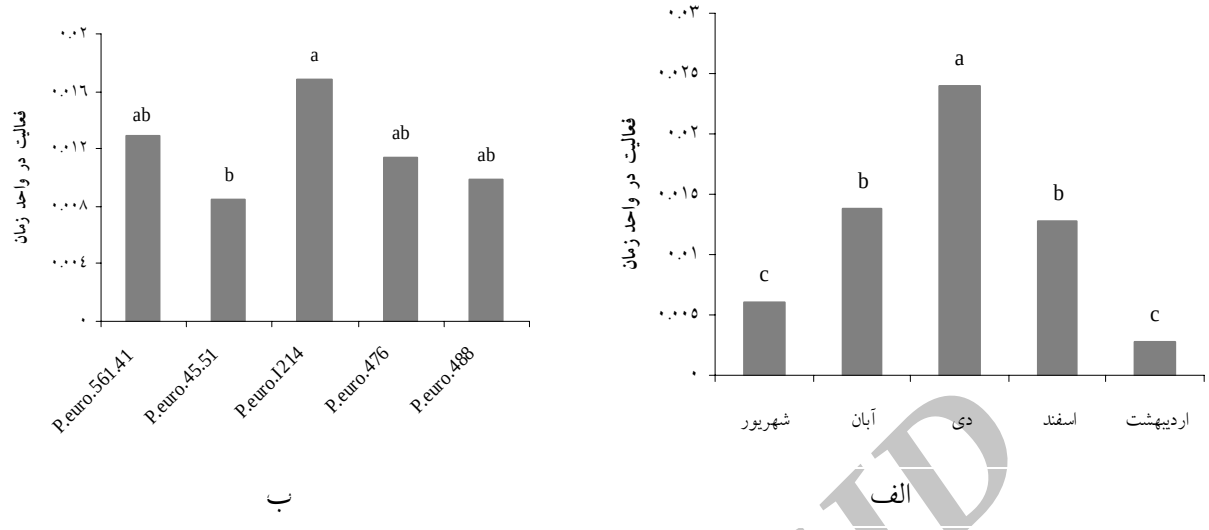
جدول ۳- تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی کاتالاز کلن‌ها در ماه‌های مورد مطالعه

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات
مدل	۰/۰۱٦	۲٥	۰/۰۰۱**
کلن	۰/۰۰۱	٤	۰/۰۰۰^{ns}
ماه	۰/۰۰٤	٤	۰/۰۰۱**
کلن × ماه	۰/۰۰۱	۱٦	۰/۰۰۰۰٦^{ns}
خطا	۰/۰۰٤	٥۰	۰/۰۰۰۰۸
کل	۰/۰۲۰	۷٤	

*و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار

Archive of SID

www.SID.ir



الف ب

شکل ۲- مقایسه میانگین فعالیت کمی آنزیم کاتالاز کلن‌ها: (الف) بین پنج ماه، (ب) بین پنج کلن

تجزیه و تحلیل خوشه‌ای کلن‌ها

دسته‌بندی کلن‌ها بر اساس فعالیت پراکسیداز در پنج ماه مورد مطالعه نشان داد که به‌ترتیب کلن‌های ٤٥/٥١، ٥٦١/٤١ و ٤٧٦ دارای بیشترین تفاوت با هم و با سایر کلن‌ها بوده و فقط کلن‌های I٢١٤ و ٤٨٨ با هم شبیه بودند (شکل ۳). اما دسته‌بندی کلن‌ها از نظر فعالیت کاتالاز در پنج ماه مورد مطالعه در شکل ٤ حکایت از مشابهت کلن‌های ٤٥/٥١ با ٤٨٨ و همچنین ٥٦١/٤١ با I٢٤١ بود، و در این بین فقط کلن ٤٧٦ به‌طور انفرادی در دسته جداگانه‌ای قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

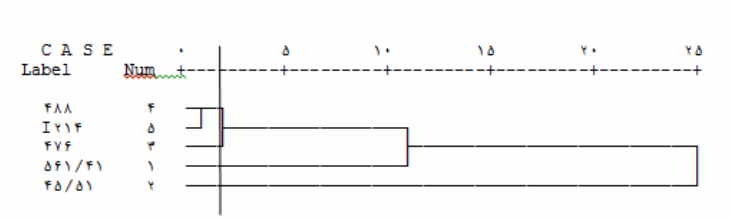
جدول ٤- مقایسه چند گانه فعالیت کمی کاتالاز کلن‌ها در پنج ماه مورد مطالعه

شماره	کلن	میانگین	حروف
۱	٥٦۱/٤۱ (شهریور)	۰/۰۰۸٥	cde
۲	٤٥/٥۱ (شهریور)	۰/۰۰٤٥	cde
۳	٤۷٦ (شهریور)	۰/۰۰۱٥۳	de
٤	٤۸۸ (شهریور)	۰/۰۰٦۹	cde
٥	I۲۱٤ (شهریور)	۰/۰۰۸۳۳	cde
٦	٥٦۱/٤۱ (آبان)	۰/۰۱۳٥٦	bcde
۷	٤٥/٥۱ (آبان)	۰/۰۰۸۲۳	cde
۸	٤۷٦ (آبان)	۰/۰۰۸۷۳	cde
۹	٤۸۸ (آبان)	۰/۰۱۷٤۳	abcde
۱۰	I۲۱٤ (آبان)		abc
۱۱	٥٦۱/٤۱ (دی)	۰/۰۲۹۷	ab
۱۲	٤٥/٥۱ (دی)	۰/۰۱۸٤	abcde
۱۳	٤۷٦ (دی)	۰/۰۲۰۹	abc
۱٤	٤۸۸ (دی)	۰/۰۱۷۷	abcde
۱٥	I۲۱٤ (دی)	۰/۰۳۳٤	a
۱٦	٥٦۱/٤۱ (اسفند)	۰/۰۱۲٦	bcde
۱۷	٤٥/٥۱ (اسفند)	۰/۰۱۰۸	cde
۱۸	٤۷٦ (اسفند)	۰/۰۱٤۹٦	bcde
۱۹	٤۸۸ (اسفند)	۰/۰۰٦۷٦	cde
۲۰	I۲۱٤ (اسفند)	۰/۰۱۸۷٦	abcd
۲۱	٥٦۱/٤۱ (اردیبهشت)	۰/۰۰۰۱٦	e
۲۲	٤٥/٥۱ (اردیبهشت)	۰/۰۰۰۱٦	e
۲۳	٤۷٦ (اردیبهشت)	۰/۰۱۰٥٦	cde
۲٤	٤۸۸ (اردیبهشت)	۰/۰۰۰۳۳	de
۲٥	I۲۱٤ (اردیبهشت)	۰/۰۰۲۱۳	de

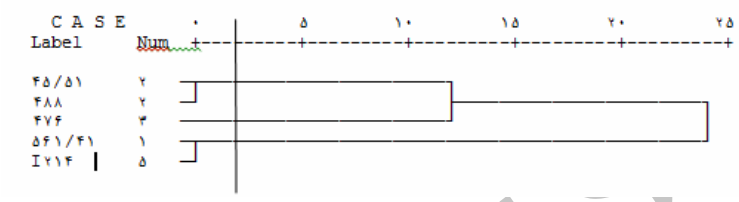
حروف همنام و غیرهمنام به‌ترتیب نشان‌دهنده گروه‌های مشابه و غیرمشابه هستند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- دندروگرام آنالیز خوشه‌ای کلن‌ها بر اساس فعالیت پراکسیداز در پنج ماه مختلف



شکل ٤- دندروگرام آنالیز خوشه‌ای کلن‌ها بر اساس فعالیت کاتالاز در پنج ماه مختلف

بحث

نتایج این تحقیق به‌طورکلی تغییرات آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را در واکنش کلن‌های *P.euramericana* در برابر تغییرات دمایی فصول مختلف نشان داد. فعالیت هر دو آنزیم در فصل سرما چندین برابر فصل گرما است و میزان سطوح کلی پراکسیداز بیشتر از کاتالاز می‌باشد که این نتایج به نحو بارزی تأثیر عوامل زیست محیطی مثل دما و تغییرات فصول را روی تغییرات متابولیسمی گیاهان نشان داد که با نتایج سایر محققان در این زمینه مطابقت دارد (Parhizkar *et al.*, 2009؛ Parhizkar *et al.*, 2002؛ Ali Ahmad Korori, 1993؛ Chen *et al.*,2005؛ Shittenhelm *et al.*, 2006). همان‌طورکه در مقدمه ذکر شد گیاهان در جهت مقابله با استرس‌های محیطی ازجمله سرما یک سری از سیستم‌های سم‌زدایی مانند پراکسیداز و کاتالاز را توسعه داده‌اند (Polle, 2002, Chakraborty & Tongden, 2005) که در این پژوهش کلن‌های صنوبر اروآمریکانا در زمستان میزان آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را به‌منظور مقابله با سرما تغییر داده‌اند ولی روند تغییرات پراکسیداز به‌ویژه در دی و اسفندماه عکس تغییرات کاتالاز می‌باشد، به‌طوری‌که از آبان به سمت دی‌ماه پراکسیداز کاهش ولی کاتالاز افزایش و از دی به سمت اسفندماه پراکسیداز افزایش ولی کاتالاز کاهش یافت. تحقیقات علمی زیادی نشان می‌دهند که تغییرات آنزیم پراکسیداز و کاتالاز هم جهت با هم صورت نمی‌گیرد (Bogdanovi *et al.*, 2007، Gechev *et al.*, 2003, Okane *et al.*,1995). مقایسه واکنش‌های پنج کلن مورد مطالعه در پنج ماه نیز نشان می‌دهد که بیشترین تفاوت آنها از نظر آنزیم پراکسیداز در اسفندماه و آنزیم کاتالاز در دی‌ماه مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که تفاوت‌های کلن‌ها از نظر فعالیت این دو آنزیم، آنها را در چهار گروه مجزا قرار می‌دهد. همچنین مشاهده می‌شود وقتی که کلن‌ها از نظر آنزیمی بیشترین تفاوت را دارند از

Archive of SID

www.SID.ir

نظر آنزیم دیگر بیشترین مشابهت را دارند که این مطلب در مورد آنزیم پراکسیداز در اسفندماه (چهار گروه) در مقایسه با سه گروه آنزیم کاتالاز در همین ماه و در مورد آنزیم کاتالاز در دی‌ماه (چهار گروه) در مقایسه با دو گروه آنزیم پراکسیداز در همین ماه مصداق پیدا می‌کند. کلن‌های I۲۱٤ در دی‌ماه و ٥٦۱/٤۱ در اسفندماه به‌ترتیب دارای بیشترین مقدار کاتالاز و پراکسیداز و کلن‌های ٤۸۸ و ٤٥/٥۱ بطور مشترک در دی‌ماه و کلن ٤٥/٥۱ در اسفندماه به‌ترتیب دارای کمترین مقدار کاتالاز و پراکسیداز بودند. بنابراین مشاهده می‌شود که کلن‌های مورد مطالعه از نظر مقاومت به سرمای زمستان متفاوت می‌باشند. به‌طورکلی کلن‌های گونه‌های مختلف گیاهی به علت داشتن پایه ژنتیکی مشابه بهم نزدیکند و تعیین تفاوت‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و مقاومت به تنش آنها در حصول به عملکرد بالاتر رویشی در بحث زراعت چوب بسیار مهم می‌باشد. نتایج این تحقیق نیز با توجه به نتایج سایر محققان در افزایش سطح پراکسیداز در فصول سرد سال، توانایی‌های متفاوت کلن‌ها را در مقابله با سرمای زمستانه نشان می‌دهد (Korori *et al.*, 1994, Chen *et al.*, 2005).

همچنین مقایسه میزان پراکسیداز کلن‌ها در اواخر فصل رویش یعنی شهریورماه و اوایل فصل رویش یعنی اردیبهشت‌ماه نشان داد که فقط کلن ٤٥/٥۱ در این دو ماه دارای بیشترین مقدار بوده و سایر کلن‌ها با مقدار کمتر به هم شبیه هستند و از آنجا که تحقیقات سایر محققان حکایت از پایین بودن سطح این آنزیم در فصول رویش نسبت به فصل خزان دارد (Bogdanovic *et al.*, 2007, Monerri & Guardiola, 2001, Zolfaghary *et al.*, 2005)، مشخص می‌شود که کلن‌ها از نظر زمان خاتمه رویش در اواخر تابستان و شروع رویش در اوایل فصل بهار بجز یک کلن با هم مشابه هستند. این امر با توجه به اهمیت زمان خاتمه و شروع رویش در آمادگی گیاهان در مقابله با سرماهای نابهنگام زودرس و دیررس (Ali Ahmad Korori, 1999) در مناطق مختلف اکولوژیک کاشت کلن‌های صنوبر در جلوگیری از خسارت سرمازدگی و کاهش عملکرد تولید چوب بسیار مهم بوده و تفکیک کلنی با ویژگی‌های مورد نظر از اهمیت بالایی برخوردار است.

دسته‌بندی کلن‌ها از نظر فعالیت کمی آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در پنج ماه مختلف توسط تجزیه خوشه‌ای نیز نشان داد که کلن‌ها از این نظر دارای تفاوت‌هایی هستند و این تفاوت‌ها در مورد پراکسیداز با تفکیک کلن‌ها به چهار دسته مختلف بیشتر از کاتالاز با سه دسته کلنی می‌باشد و در این بین کلن ٤٥/٥۱ از نظر سطوح پراکسیدازی و کلن‌های ٥٦۱/٤۱ و I۲۱٤ بطور مشترک از نظر سطح کاتالازی دارای بیشترین تفاوت با سایر کلن‌ها می‌باشند.

به‌طورکلی این پژوهش نشان داد که کلن ٤٥/٥۱ به علت داشتن سطوح پراکسیدازی بالاتر در انتها و ابتدای فصل رویش دارای دوره خزان و خواب طولانی‌تر و در نتیجه دوره رویش کمتری نسبت به سایر کلن‌ها بوده ولی در عوض نسبت به سرماهای نابهنگام دارای مقاومت بیشتری است. همچنین کلن‌های I۲۱٤ و ٥٦۱/٤۱ به علت سطوح پراکسیدازی و کاتالازی کلی بالاتر در فصل سرما به‌عنوان مقاومترین کلن‌ها به سرمای زمستانه جهت کاشت در مناطق سردسیرتر توصیه می‌گردند.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع مورد استفاده

– Ali Ahmad Korori, S., 1999. Investigation on Responses of Forest Trees Enzymes to Alteration of Environmental Factors. Research Institute of Forests and Rangelands Press, 333p.

– Ali Ahmad Korori, S., 1993. Seasonal alteration of peroxidase enzymes and isoenzymes in *Larix decidue* and its role in trees resistance to chilling and ripening. Pajouhesh and Sazandegi, 20: 14-16

– Ali Ahmad Korori, S. and Salehi, P., 1994. Seasonal and temperature alteration of peroxidase and amylase enzymes in *Picea abies*. Pajouhesh and Sazandegi, 24:56-59.

– Ali Ahmad Korori, S., Pichorner, H. and Ebermann, R., 1994. Seasonal alteration of peroxidase and catalase isoenzyme in branchs and seeds of three different species of *larix*. Plant Peroxidase Newsletter No.3.

– Anonymous, 1972. Worthington Biochemical Corporation, Worthington enzyme manual. Freehold, New Jersey, U.S.A. pp. 43-45.

– Bogdanovic, J., Milosavic, N., Prodanovic, R., Ducic T. and Radotic, K., 2007. Variability of antioxidant enzyme activity and isoenzyme profile in needles of Serbian spruce (*Picea omrika* (Pance) Purkinye). Biochemical Systematics and Ecology, 35: 263-273.

– Chakraborty, U. and Tongden, C., 2005. Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatments as potent inducers of thermotolerance in *Cicer arietinum* L. Current Science. 89: 384-389.

– Chen, Y., Zhang, M. and An, L., 2005. The relation between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. South African Journal of Botany, 72: 272-279.

– Ebermann, R., and Stich, K., 1982. Peroxidase and Amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. Phytochemistry, 21: 2401-2402.

– Gechev, T., Willekens, H., Van Montagu, M., Inze, D., Van Camp, W., Toneva, V. and Minkov, I., 2003. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress. Plant Physiology, 160: 509-515.

– Monerri, C. and Guardiola, J., 2001. Peroxidase activity and isoenzyme profile in buds and leaves in relation to flowering in *Atsuma mandarin (Cirtus unshiu)*. Scientia Horticulturae, 90: 34-56.

– Okane, D., Gill, V., Boyd, P. and Burdon, R., 1995. Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus. Planta, 198:371-377.

– Parhizkar, P., Ali Ahmad Korori, S., Moraghebi, F. and Adeli, A., 2002. Peroxidase and enzyme in order to looking for resistant individuals. Pajouhesh and Sazandegi, 56:44-47.

– Parhizkar,P., Ali Ahmad Korori, S., Moraghebi, F., Teimouri, M., Torabian, y. and Manouchehri, N., 2009. Seasonal alteration of peroxidase in branch and leaves of *Eucalyptus viminalis* Labill. Iranian Forest and Poplar Research, 16: 368-377.

– Polle, A., 2002. Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. Plant Physiology and Biochemistry, 40: 141-150.

– Schittenhelm, J., Toder, S., Fath, S., Westphal, S. and Wagner, E., 2006. Photoinactivation of catalase in needles of Norway spruce. Physiologia Plantarum, 90:600-606.

– Souleres, G., 2007. Environments of *Populus* plantation, translated by Amani, M. Rah Sobhan Press, Tehran, 280 pp.

– Zolfaghari, R., Korori, S., and Etemad, V., 2005. Changes in the activity of amylase, peroxidase and catalase in beech (*Fagus orientalis* Lipsky) during dormancy and growth. Acta Biologica Hungarica, 56:305-311.

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of peroxidase and catalase levels of different clones of *Populus euramericana*

Z. Saeedi[*1] and D. Azadfar[2]

1*- Corresponding author, PhD student, Forest Sciences, Department of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Email: saeedizohre@gmail.com
2- Assoc. Prof., Forest Biotechnology, Department of Forest Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

Received: 03.07.2011 Accepted: 11.11.2012

Abstract

Populus euramericana is one of the most important species for agroforestry in Iran. Nowadays, several non-native clones of the species have been imported to the country. But their individual differences are unknown and important to us. The objective of this research was to determine the differences among five clones of the species based on two important enzymes, peroxidase and catalase as environmental bio-indicator from late summer to early spring. Therefore, quantitative activities of the enzymes were studied by spectrophotometry method on asexually propagated seedlings of the clones. Results indicated that the majority of the differences for peroxidase and catalase were observed during March and January respectively. Generally the results showed that peroxidase activity of clone 45/51 during the beginning and the end of growing season and also both enzymes activities of clones 561/41 and I214 had the highest differences with other clones during the cold months of the year.

Key words: *Populus euramericana*, Peroxidase, Catalase, Clone.

Archive of SID

www.SID.ir