دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه ۲۱۴-۲۰۳ (۱۳۹۴)

تغییرات کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز در برخی پایه‌های افراپلت (*Acer velutinum Boiss.*) در ارتفاعات مختلف جنگل‌های مازندران

رقیه خاکسار[۱]، مجید الداغی[۲*] ، اعظم سلیمی[۳] و کامبیز اسپهبدی[۴]

۱ -دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشگاه خوارزمی، تهران

۲* -نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، مازندران

پست الکترونیک: m_aldaghi@yahoo.com

۳ -استادیار، دانشگاه خوارزمی، تهران

۴ -دانشیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، مازندران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۶

چکیده

آنزیم پراکسیداز به‌عنوان شاخص تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان همواره مورد توجه محققان بوده است. این مطالعه با هدف بررسی تغییرات کمی و کیفی آیزوزایم‌های پراکسیداز در پایه‌های افراپلت (*Acer velutinum* Boiss.) در منطقه جنگلی هزارجریب استان مازندران انجام شد. در اواسط فصل پاییز تعداد ۳۰ پایه درخت افراپلت در سه دامنه ارتفاعی (کمتر از ۷۰۰، بین ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ و بیشتر از ۱۵۰۰ متر از سطح دریا) انتخاب شده و از پوست تنه آن‌ها نمونه‌برداری شد. پس از تهیه نمونه‌های مورد نظر و عصاره‌گیری از آن‌ها، مطالعات کمی آنزیمی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و مطالعات کیفی با استفاده از روش الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید انجام شد. بر اساس فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در پوست تنه پایه‌های افراپلت در رویشگاه‌های بالابند، میان‌بند و پایین‌بند اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵٪ دیده شد. بر این اساس، سه رویشگاه مورد بررسی از لحاظ فعالیت کمی آنزیم تا حد زیادی قابل تفکیک از یکدیگر بودند. بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز نیز نشان داد که این آنزیم برای مطالعه تنوع ژنتیکی در درون و بین رویشگاه‌های افراپلت کارآیی لازم را دارد. بعلاوه نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که فراوانی ظهور باندهای کاتدی در رویشگاه‌های بالابند و میان‌بند نسبتاً بیشتر بود که علت این امر را می‌توان به احتمال وقوع سرمای دیررس بهاره در ارتفاعات بالاتر از ۸۰۰ متر نسبت داد.

واژه‌های کلیدی: افراپلت، ارتفاع، پراکسیداز، آیزوزایم، الکتروفورز.

مقدمه

در مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌ها، همواره نشانگرهای متفاوتی به‌کار رفته‌اند؛ اما انتخاب همه آنها بر اساس داشتن دو ویژگی شاخص بوده است: اولاً در بین افراد جامعه متفاوت بوده و یا به‌عبارتی دارای چند شکلی باشند. ثانیاً منشأ ژنتیکی داشته و یا به‌عبارتی قابل توارث باشند (Espahbodi, 2005). از جمله این نشانگرها، نشانگرهای بیوشیمیایی (پروتئین‌ها) است که به دو گروه پروتئین‌های آنزیمی و پروتئین‌های غیر آنزیمی دسته‌بندی می‌شوند. این نشانگرها عمدتاً در شناسایی ژنوتیپ‌ها، ارزیابی گونه‌ها و

بررسی ساختار ژنتیکی گونه‌ها و کولیتوارها استفاده شده‌اند (Bednorz *et al.*, 2004). آنزیم‌ها دسته‌ای از پروتئین‌ها هستند که در مسیرهای اصلی متابولیک گیاهان از قبیل فتوسنتز، تنفس و چرخه اسید سیتریک نقش فعال‌کننده‌ای دارند. آنزیم پراکسیداز یک کاتالیزور مهم است که در بیشتر واکنش‌های متابولیکی گیاهان نقش عمده‌ای دارد. فیزیولوژیست‌ها، این آنزیم را به‌عنوان یک شاخص مناسب جهت بررسی نحوه واکنش گیاهان در برابر عوامل مختلف زیست‌محیطی معرفی کرده‌اند. دلایل کاربرد زیاد این آنزیم در مطالعات مختلف، وجود چند شکلی‌های فراوان، حساسیت نسبتاً زیاد آن نسبت به شرایط محیطی، آسانی مطالعه آن بر روی ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید و ارتباط آن با تغییرات فیزیولوژیکی گیاه می‌باشد (Iranmanesh *et al.*, 2009).

پراکسیداز جزء آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز است که با حذف ماده سمی پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در واکنش‌های دفاعی گیاهان نقش مهمی دارد. از وظایف مهم دیگر آن، دخالت در نحوه واکنش گیاهان در برابر عوامل تنش‌زا است. تغییرات طبیعی فنولوژی و فیزیولوژی و شرایط نامطلوب محیطی مثل دمای کم، نور زیاد، خشکی و نظائر اینها می‌توانند موجب افزایش تولید انواعی از اکسیژن فعال مثل H_2O_2 و O_2^- در بافت‌های گیاهان شود. این افزایش به نوبه خود تغییراتی در آیزوزایم‌های پراکسیداز القاء می‌کند که در جهت سازش گیاه با شرایط نامطلوب است. این مسئله برای گونه‌های درختی مناطق معتدله که در طول زندگی با تغییرات زیادی در شرایط محیطی خود مواجه هستند، اهمیت بیشتری دارد (Staszak *et al.*, 2007; Valipour Kahrood *et al.*, 2007; Horvath *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 1995).

نحوه عمل پراکسیداز در پاسخ به‌عوامل محیطی خاص با استفاده از تکنیک‌های متفاوتی مطالعه شده است که مهم‌ترین آن‌ها مطالعه آیزوزایم‌های پراکسیداز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید است. آیزوزایم‌ها اشکال ملکولی مختلف یک آنزیم با خصوصیات آنزیمی مشابه هستند (Zeidler, 2000). در تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید، آیزوزایم‌ها با حرکت بر روی یک ژل در یک میدان الکتریکی، بر اساس اندازه و بار الکتریکی از یکدیگر جدا می‌شوند.

بر طبق مطالعات انجام شده، آنزیم‌هایی همچون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز در تعداد زیادی از گونه‌های جنگلی مثل بارانک، صنوبر، راش، افرا، بلوط، سدر و نظائر اینها به منظورهای مختلفی همچون بررسی تنوع، انتخاب پایه‌ها یا اکوتیپ‌های مقاوم به تنش در درون یا بین جمعیت‌ها و غیره مورد استفاده قرار گرفته و کارایی آنها مطلوب ارزیابی گردیده است (Espahbodi *et al.*, 2005&2013; Babaei *et al.*, 2012; Raeisi *et al.*, 2011; Colic *et al.*, 2010; Kurt et al., 2008; Staszak *et al.*, 2007; Bednorz *et al.*, 2004).

افراپلت (*Acer velutinum* Boiss.) یکی از گونه‌های درختان جنگلی است که ارزش اقتصادی بالایی دارد و در جنگل‌های شمال ایران، از مینودشت گرگان تا آستارا به‌طور پراکنده، تک پایه و گاهی در گروه‌های کوچک آمیخته با راش، ممرز و بلوط دیده می‌شود (Khorankeh, 2004; Sagheb Talebi, 2000). از نظر اکولوژی، این گونه خصوصیاتی چون نورپسندی و در عین حال قابلیت تحمل سایه در جوانی و ریشه دوانی نسبتاً عمیق دارد (Amani *et al.*, 1996). افراپلت حدود ۵٪ از حجم جنگل‌های تجاری شمال کشور را تشکیل می‌دهد (Rasaneh *et al.*, 2001) که با توجه به کیفیت، ابعاد و حجم چوب تولیدی یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنگلی محسوب می‌شود.

گونه افراپلت با توجه به رشد سریع، بذردهی فراوان، سهولت زادآوری و تاثیر بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک در جنگل‌کاری مورد توجه قرار گرفته است (Khorankeh, 2004; Sagheb Talebi, 2000). تنوع ژنتیکی در گونه افراپلت تاکنون مطالعه نشده است. مطالعه حاضر می‌تواند اساس زمینه‌های مطالعاتی دیگر از جمله تنش‌های زیست محیطی، به‌نژادی و اصلاح نباتات، طبقه‌بندی و تعیین روابط خویشاوندی را در گونه افراپلت فراهم آورد. تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات کمی و کیفی آیزوزایمی پراکسیداز

به‌منظور مطالعه تنوع در درون و در بین جوامع افراپلت (*A. velutinum*) در یک نیم‌رخ ارتفاعی در منطقه جنگلی هزارجریب استان مازندران انجام شد.

مواد و روش‌ها

جهت نمونه‌برداری در هر یک از سه دامنه ارتفاعی بالابند، میان‌بند و پایین‌بند (به‌ترتیب بیشتر از ۱۵۰۰، ۱۰۰۰–۸۰۰ و کمتر از ۷۰۰ متر از سطح دریا) از یک رویشگاه جنگلی در منطقه هزارجریب شهرستان نکاء مازندران، ۱۰ پایه درخت افراپلت (با رعایت فاصله ۱۰۰ متری از یکدیگر)، در مجموع ۳۰ پایه درخت به‌طور تصادفی انتخاب شد. نمونه‌های پوست تنه این پایه‌ها درون کیسه نایلونی در مجاورت یخ قرار گرفته و بلافاصله به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران منتقل و جهت استخراج عصاره آنزیمی آماده شدند.

جهت استخراج آنزیم، نیم گرم از بافت پوست تنه هر یک از نمونه‌ها در هاون چینی در مجاورت ازت مایع ساییده شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک ، ۳/۸ گرم بوراکس، ۳/۶ گرم کلرید سدیم، ۲ گرم $EDTA\text{-}Na_2$، ۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه و به‌مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. عصاره حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد در ۳۰۰۰g× سانتریفیوژ شد. محلول شفاف بالایی، به تیوب‌های تمیز منتقل و تا زمان مصرف در فریزر نگهداری شد.

فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر طبق روش Abeles وBiles (۱۹۹۱) با اندکی تغییر سنجیده شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲۵ میکرولیتر بنزیدین (۰/۰۰۱M)، ۲۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۰/۰۰۱M) و ۴۰۰ میکرولیتر بافر استات (۰/۰۵M, pH = ۵) بلافاصله پس از بیرون آوردن از انکوباتور (۳۰–۳۷°C) در اسپکتروفتومتر قرار داده شد و میزان جذب نوری نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. عمل خواندن در فواصل زمانی ۳۰ و ۶۰ ثانیه ادامه یافت. ترکیب نمونه شاهد مشابه مخلوط واکنش بود به‌جز اینکه به‌جای عصاره آنزیمی در آن از بافر عصاره‌گیری استفاده شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز، با روش تجزیه واریانس داده‌ها (ANOVA) و مقایسات چندگانه دانکن و با کمک نرم‌افزار SPSS (version 16) تجزیه و تحلیل شدند.

به‌منظور بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز، از الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید (PAGE) طبق روش Aldaghi و همکاران (۲۰۱۰) با اندکی تغییر استفاده شد. در این روش از سیستم بافر ناپیوسته و ژل ناواسرشت ۱۰ درصد متمایزکننده و ۴ درصد متراکم‌کننده استفاده شد. مقدار ۴۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی هر نمونه پس از مخلوط‌کردن با بافر نمونه درون چاهک‌های ژل تزریق شد. دمای ژل در طول انجام کار با کمک سیستم خنک‌کننده پایین نگه داشته شد. الکتروفورز در شدت جریان ۸۰ میلی‌آمپر تا رسیدن سطح رنگ پیشرو به انتهای ژل ادامه یافت.

برای رنگ‌آمیزی، ژل به‌مدت یک الی دو ساعت در ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول رنگ‌آمیزی شامل۰/۰۳۷گرم بنزیدین، ۱/۱۵ میلی‌لیتر اسید استیک، ۲/۷۲ گرم استات سدیم آبدار و ۲۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳٪ قرار داده شد و پس از شستشو با آب مقطر مطالعه شد.

در تجزیه و تحلیل الگوی باندهای آیزوزایمی ابتدا باندهای آیزوزایمی بر اساس میزان حرکت نسبی بر روی ژل به سه گروه تقسیم‌بندی شدند. بخش اول (یک سوم ابتدایی مسافت حرکت باندها) شامل باندهای آیزوزایمی سنگین، بخش دوم (یک سوم میانی مسافت حرکت باندها) شامل باندهای آیزوزایمی متوسط و بخش سوم (یک سوم انتهایی مسافت حرکت باندها) شامل باندهای آیزوزایمی سبک بودند. باندهای آیزوزایمی واقع در ابتدا تا انتهای طول ژل به‌ترتیب شماره-گذاری شدند. سپس زایموگرام‌های مربوط به الگوی باندهای آیزوزایمی توسط نرم‌افزار Ecxel ترسیم شد. در نهایت داده‌های صفر و یک مربوط به حضور یا عدم حضور باندهای آیزوزایمی در جمعیت‌های واقع در رویشگاه‌های مورد بررسی، با روش تجزیه و تحلیل خوشه‌ای توسط نرم‌افزار JMP

(version 3) تجزیه و تحلیل شد. در این روش ابتدا داده‌ها استاندارد شده و سپس از روش Ward برای گروه‌بندی پایه‌ها استفاده شد.

نتایج

بررسی فعالیت کمی پراکسیداز در پایه‌های افراپلت در سه رویشگاه

در فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در نمونه‌های پوست تنه که طی زمان‌های ۳۰ و ۶۰ ثانیه بعد از افزودن پراکسید هیدروژن، به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد، تفاوت در درون و بین رویشگاه‌های مورد بررسی از نظر فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در ۶۰ ثانیه در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). همچنین نتایج مقایسات چندگانه دانکن، رویشگاه واقع در ارتفاع بالابند را با بیشترین فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در گروه برتر و رویشگاه واقع در ارتفاع پایین‌بند را با کمترین مقدار فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در گروه آخر و رویشگاه میان‌بند را به‌عنوان گروه بینابینی معرفی کرد (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل خوشه‌ای داده‌های فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در ۶۰ ثانیه به‌صورت دندروگرام در نمودار ۱ نشان داده شد. در این دندروگرام، خط برش پایه‌های هر سه رویشگاه را در ۶ خوشه از یکدیگر متمایز کرد. خوشه اول شامل پایه‌های شماره ۱، ۹، ۴ و ۷ از رویشگاه بالابند و پایه شماره ۱ از رویشگاه میان‌بند بود. خوشه دوم، پایه شماره ۳ از رویشگاه بالابند و پایه‌های شماره ۳، ۷، ۲، ۶ و ۸ از رویشگاه میان‌بند را شامل شد. خوشه سوم شامل پایه‌های شماره ۱، ۵، ۹، ۱۰، ۲، ۶ و ۷ از رویشگاه پایین‌بند، خوشه چهارم شامل پایه‌های شماره ۲، ۶، ۱۰، ۵ و ۸ از رویشگاه بالابند، خوشه پنجم شامل پایه‌های شماره ۴، ۹، ۵ و ۱۰ از رویشگاه میان‌بند و خوشه ششم شامل پایه-های شماره ۳، ۸ و ۴ از رویشگاه پایین‌بند بود. لذا بر اساس گروه‌بندی انجام شده می‌توان نتیجه گرفت که درصد بالایی از خوشه‌ها تنها اختصاص به پایه‌های یکی از سه رویشگاه داشته و بنابراین جمعیت این سه رویشگاه به‌طور نسبی از یکدیگر تفکیک شدند. به‌علاوه نتایج خوشه‌بندی، تنوع در درون جمعیت هر رویشگاه را نیز نشان داد.

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز ۶۰ ثانیه بعد از شروع واکنش آنزیمی برای رویشگاه‌های مختلف

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
بین رویشگاه	۲	۰/۰۰۲*
درون رویشگاه	۲۷	۰/۰۰۰۴
کل	۲۹	

*: اختلاف در سطح ۹۵٪ معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در رویشگاه‌های مورد مطالعه (دانکن ۵ درصد)

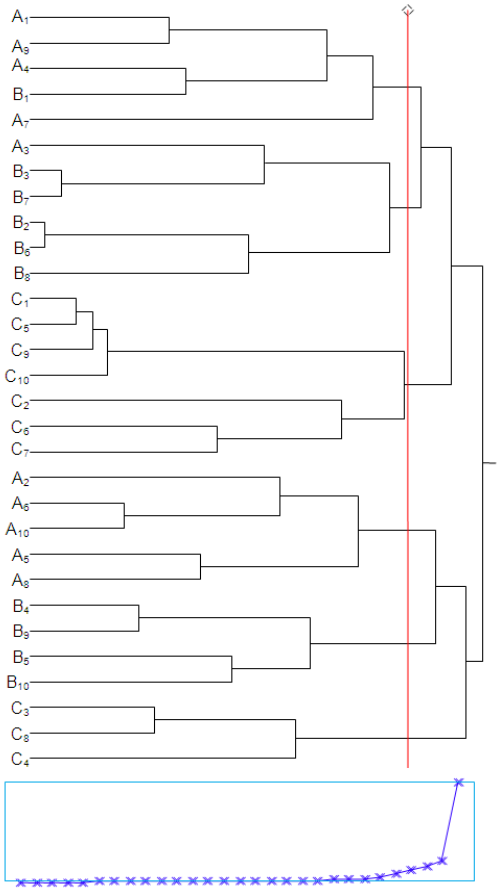
رویشگاه	فعالیت کمی آنزیم در ثانیه ۶۰
بالابند	۰/۰۴۵ ±۰/۰۰۷a
میان بند	۰/۰۳۱±۰/۰۰۶b
پایین بند	۰/۰۱۹ ±۰/۰۰۵c

حروف نامشابه نشانه اختلاف معنی‌دار رویشگاه‌ها در سطح ۹۵٪ می‌باشد.

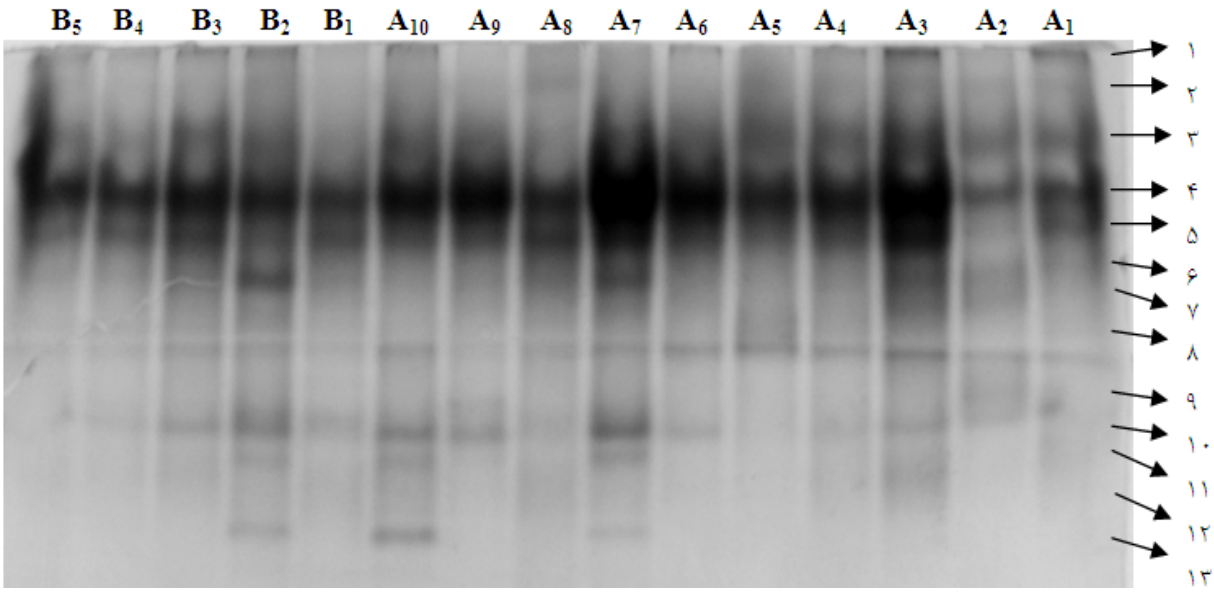
بررسی فعالیت کیفی پراکسیداز در پایه‌های افراپلت در سه رویشگاه

در بررسی کیفی الگوهای آیزوزایمی پراکسیداز برای نمونه‌های پوست تنه در ۳۰ پایه مورد بررسی در سه رویشگاه، در مجموع ۱۳ باند آیزوزایمی در ژل پلی‌اکریل‌آمید مشاهده شد (شکل ۱). باندهای شماره ۱ تا ۸ در دامنه مولکول‌های سنگین و باندهای شماره ۹ تا ۱۳ در دامنه مولکول‌های متوسط قرار گرفتند. درصد فراوانی ظهور این باندها در بین ۳۰ پایه مورد بررسی در سه رویشگاه از ۷ تا ۱۰۰٪ متغیر بود. به‌طور کلی فراوانی باندهای سنگین از فراوانی باندهای متوسط بیشتر بود. در دامنه سنگین، باند شماره ۴ (با فراوانی ۱۰۰٪ و بیشترین قوت) به‌عنوان باند آیزوزایمی پایه برای گونه افراپلت در رویشگاه‌های مورد بررسی معرفی شد. باندهای شماره ۳ و ۵ نیز (با فراوانی ۱۰۰٪) در همه پایه‌های هر سه رویشگاه ظاهر شدند. پس از آن، باند شماره ۶ (با فراوانی ۹۳٪) از لحاظ درصد فراوانی در جایگاه دوم و باند شماره ۲ (با فراوانی ۷۳٪) در رتبه سوم قرار گرفت (جدول ۳).

باند شماره ۹ با فراوانی ۷٪ فقط در جمعیت بالابند و باندهای شماره ۱۱ و ۱۳ به‌ترتیب با فراوانی ۲۰ و ۱۳٪ تنها در جمعیت‌های بالابند و میان‌بند مشاهده شدند. به‌علاوه فراوانی بالاتر باندهای کاتدی (سبک) به‌ترتیب در رویشگاه‌های بالابند، میان‌بند و پایین‌بند ثبت شد (نتایج نشان داده نشده است).



نمودار ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل خوشه‌ای داده‌های فعالیت کمی پراکسیداز طی ۶۰ ثانیه بعد از شروع واکنش آنزیمی در نمونه‌های پوست تنه پایه‌های شماره ۱۰-۱ رویشگاه‌های بالابند (A_1-A_{10})، میان‌بند (B_1-B_{10}) و پایین‌بند (C_1-C_{10}). خط برش پایه‌های سه رویشگاه را در ۶ خوشه از یکدیگر متمایز می‌کند.



شکل ۱- بخشی از الگوی آیزوزایمی پراکسیداز برای نمونه‌های پوست تنه پایه‌های شماره ۱ تا ۱۰ رویشگاه بالابند (A_1-A_{10}) و پایه‌های شماره ۱ تا ۵ رویشگاه میان‌بند (B_1-B_5). باندهای آیزوزایمی (شماره ۱۳-۱) در سمت راست شکل مشخص شداند.

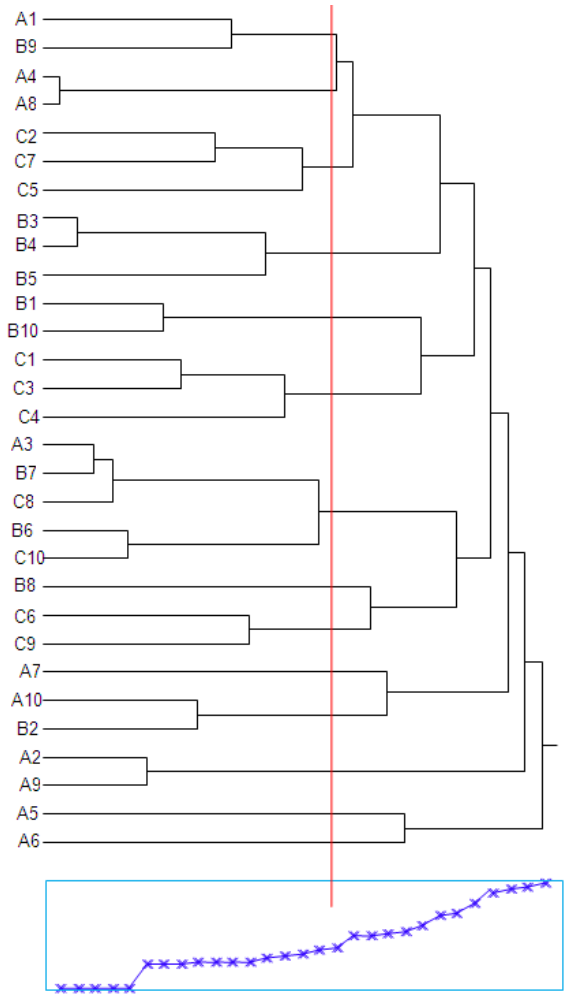
جدول ۳- مقایسه فراوانی ظهور باندهای آیزوزایمی پراکسیداز در بین ۳۰ پایه مورد بررسی در سه رویشگاه

ناحیه بر اساس فاصله ازمبدا	شماره باند	فراوانی باند در بین پایه‌ها	درصد فراوانی باند در بین پایه‌ها
	۱	۲۰	۶۷
	۲	۲۲	۷۳
	۳	۳۰	۱۰۰
۳۳/۳۳٪ ابتدایی ژل	۴	۳۰	۱۰۰
(دامنه باندهای سنگین)	۵	۳۰	۱۰۰
	۶	۲۸	۹۳
	۷	۱۳	۴۳
	۸	۴	۱۳
	۹	۲	۷
	۱۰	۲۰	۶۷
۳۳/۳۳٪ میانی ژل	۱۱	۶	۲۰
(دامنه باندهای متوسط)	۱۲	۱۱	۳۷
	۱۳	۴	۱۳

گروه‌بندی پایه‌های افراپلت بر اساس الگوهای آیزوزایمی نمونه‌های پوست تنه در رویشگاه‌های مورد بررسی به‌صورت دندروگرام در نمودار ۲ نشان داده شده است. در این دندروگرام خط برش ۱۴ خوشه را از یکدیگر متمایز می‌کند. از این ۱۴ خوشه، فقط خوشه‌ی اول، هفتم و یازدهم شامل پایه‌هایی از دو یا هر سه رویشگاه مورد

بررسی هستند. یازده خوشه دیگر (۷۸/۶٪ کل خوشه‌ها)، هر کدام شامل پایه یا پایه‌هایی تنها از یکی از رویشگاه‌های مورد بررسی هستند. به‌طور مثال، خوشه دوم شامل پایه‌های شماره ۴ و ۸ از رویشگاه بالابند، خوشه سوم شامل پایه‌های شماره ۲، ۷ و ۵ از رویشگاه پایین‌بند، خوشه چهارم شامل پایه‌های شماره ۳، ۴ و ۵ از رویشگاه میان‌بند، خوشه پنجم شامل پایه‌های شماره ۱ و ۱۰ از رویشگاه میان‌بند و خوشه ششم شامل پایه‌های شماره ۱، ۳ و ۴ از رویشگاه پایین‌بند می‌باشد. لذا بر اساس گروه‌بندی از روش Ward و بر اساس ظهور یا عدم ظهور باندهای آیزوزایمی می‌توان نتیجه گرفت که درصد بالایی از خوشه‌ها اختصاص به یکی از سه رویشگاه داشته و بنابراین جمعیت این سه رویشگاه به‌طور نسبی از یکدیگر تفکیک شدند.

فاصله ژنتیکی میان تک‌تک پایه‌ها در جمعیت‌های سه رویشگاه از ۰ تا ۶/۳۵ متغیر بود (نتایج نشان داده نشده است). بیشترین فاصله ژنتیکی در بین پایه‌های شماره ۱ و ۵ از رویشگاه بالابند و کمترین فاصله ژنتیکی نیز در بین پایه‌های شماره ۴ و ۸ از رویشگاه بالابند، و پایه‌های شماره ۳ و ۴ از رویشگاه میان‌بند مشاهده شد.



نمودار ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل خوشه‌ای آیزوزایم‌های پراکسیداز در نمونه‌های پوست تنه پایه‌های شماره ۱۰-۱ رویشگاه‌های بالابند (A_1-A_{10})، میان‌بند (B_1-B_{10}) و پایین‌بند (C_1-C_{10}).

بررسی تنوع پایه‌های افراپلت در درون رویشگاه‌ها

در بررسی کیفی الگوی آیزوزایمی پراکسیداز تنها برای نمونه‌های پوست تنه‌ی پایه‌های افراپلت در رویشگاه بالابند در مجموع ۱۳ باند آیزوزایمی روی ژل مشاهده شد. اگرچه در رابطه با ظهور باندهای شماره ۳، ۴ و ۵ تفاوتی بین پایه‌های مختلف این رویشگاه مشاهده نشد اما گروه‌بندی Ward پایه‌های افراپلت این رویشگاه را بدون در نظر گرفتن پایه‌های سایر رویشگاه‌ها، در ۶ خوشه متمایز از یکدیگر قرار داد. این موضوع وجود تنوع ژنتیکی بالایی را در بین پایه‌های این رویشگاه نشان داد. فاصله ژنتیکی میان تک‌تک پایه‌ها در جمعیت این رویشگاه نیز از ۰ تا ۵/۲۱ متغیر بود (نتایج نشان داده نشده است).

بر همین اساس برای پایه‌های افراپلت رویشگاه‌های میان‌بند و پایین‌بند به‌طور جداگانه، به‌ترتیب ۱۲ و ۱۰ باند آیزوزایمی روی ژل مشاهده شد. اگرچه در رابطه با ظهور باندهای شماره ۳، ۴، ۵ و ۶ تفاوتی بین پایه‌های مختلف هر یک از این رویشگاه‌ها مشاهده نشد اما بر اساس الگوی آیزوزایمی پراکسیداز، پایه‌های افراپلت هر یک از این رویشگاه‌ها به‌طور مجزا از سایر رویشگاه‌ها در ۵ خوشه متمایز قرار گرفتند. فاصله ژنتیکی میان پایه‌ها در جمعیت رویشگاه میان‌بند و پایین‌بند به‌ترتیب از ۰ تا ۴/۷۶ و از ۱/۳۶ تا ۴/۱۱ متغیر بود. این موضوع وجود تنوع ژنتیکی بالاتری را در پایه-های رویشگاه میان‌بند نسبت به پایین‌بند نشان می‌دهد.

بحث

آنزیم پراکسیداز که در اغلب گونه‌های گیاهی یافت می‌شود، شاخص تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان می‌باشد و برای نشان دادن تغییرات ژنتیکی و بررسی تنوع در جوامع گیاهی کارآمد است. این آنزیم به تنش‌های محیطی حساس بوده و قادر است H_2O_2 موجود در بافت گیاه که در مواقع تنش تولید می‌شود را خنثی کند (Sagisaka, 1985; Saho & Mishrah, 1987). لذا شرایط نامطلوب محیطی تغییراتی را در آیزوزایم‌های پراکسیداز القاء می‌کند که در جهت سازگاری گیاه با شرایط نامطلوب می‌باشد. بر طبق مطالعات انجام شده، این آنزیم در گونه‌های پهن برگ مثل بارانک، صنوبر، راش و نظائر اینها دارای بیشترین میزان چند شکلی بوده و تنوع را بسیار بهتر از سایر آنزیم‌ها در درون یا بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد (Babaei *et al.*, 2012; Colic *et al.*, 2010; Bednorz *et al.*, 2004). لذا به‌منظور بررسی میزان تنوع ژنتیکی در پایه‌های افراپلت موجود در جنگل‌های مازندران، تغییرات کمی و کیفی آیزوزایمی آنزیم پراکسیداز در برخی از این پایه‌ها طی این تحقیق مطالعه شد.

برآیند نتایج نشان داد که نشانگر آنزیمی پراکسیداز هم از لحاظ کمی و هم کیفی در بررسی تنوع در بین و درون جوامع افراپلت کارآمد بوده و قادر به تفکیک جمعیت‌های متفاوت از لحاظ ژنتیکی می‌باشد. در همین زمینه Taek Jang و همکاران (۱۹۹۱) برای بررسی تنوع ژنتیکی در جنس *Pyrus* و شناسایی گونه‌های آن با استفاده از تنوع آیزوزایمی آنزیم پراکسیداز، نمونه‌برداری از رویشگاه‌های متفاوت را در فصل یکسان انجام داده و وجود تغییرات را در رویشگاه‌های مختلف گزارش کردند که خود نشان دهنده تفاوت‌های ژنتیکی رویشگاه‌ها بوده است. در مطالعه Raeisi و همکاران (۲۰۱۱) نیز رویشگاه بلوط واقع در ارتفاع ۱۲۰۰ متر از سطح دریا از لحاظ مورفولوژی برگ‌ها و میوه و نیز فعالیت آنزیمی پراکسیداز از بقیه رویشگاه‌های واقع در ارتفاعات پایین‌تر تفکیک شد که به‌واسطه آن احتمال اکوتیپ بودن این رویشگاه بلوط را مطرح کردند. باوجود اثبات وجود تنوع در جوامع افراپلت در مطالعه حاضر، جنبه‌های مشترک نیز در بین این پایه‌ها از جمله وجود باندهای مشترک آیزوزایمی (خصوصاً باند پایه) مشاهده شد که این اشتراک‌ها ناشی از منشأ ژنتیکی مشترک پایه‌ها بوده و عوامل محیطی تأثیر کمتری در ظهور این باندها دارند (Bennett *et al.*, 2002; Conkle, 1972). در ضمن Ali Ahmad Korori (۱۹۹۳)، Horvath و همکاران (۲۰۰۲) و Iranmanesh و همکاران (۲۰۰۹) ظهور این باندها را در جمعیت‌های واقع در رویشگاه‌های متفاوت به توانمندی گیاه در پاسخ به عوامل اکولوژیک نسبت دادند.

بررسی تغییرات کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز می‌تواند در انتخاب اکوتیپ‌های مقاوم به تنش‌های محیطی مثل سرما مفید باشد. در مطالعات کیفی آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو نظیر پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش‌های زیست‌محیطی نظیر آلودگی جنگل‌ها با گاز اُزن در کالیفرنیا (Staszak *et al.*, 2007)، آلودگی‌های نفتی و آلودگی با فلزات سنگین (Valipour Kahrood *et al.*, 2007) و نیز اعمال تنش‌های مصنوعی سرمایی (Anderson *et al.*,1995) یا ترکیبات فنولی مختلف (Horvath *et al.*, 2002)، علت اصلی تغییر در فراوانی باندهای آیزوزایمی به پدیده تنش نسبت داده شده است. به‌طور کلی هرگاه در ارتفاعات مختلف بالابند، میان‌بند و پایین‌بند تنش سرما رخ داده، قبل از وقوع تنش، فعالیت کمی پراکسیداز و تعداد جایگاه‌های آیزوزایمی به‌ویژه در بخش کاتدی افزایش یافته است (Zolfaghari *et al.*, 2007). در تحقیق حاضر، فعالیت کمی بیشتر پراکسیداز و نیز فراوانی نسبتاً بیشتر باندهای کاتدی (سبک) در رویشگاه‌های بالابند و میان‌بند نسبت به رویشگاه پایین‌بند به ثبت رسید که می‌توان آن را به اثرات متقابل بین فراوانی باندهای آیزوزایمی پراکسیداز و ارتفاع از سطح دریا نسبت داد. چون باندهای کاتدی اساساً برای مقابله با تنش‌های سرمایی فعال می‌شوند، ممکن است در اوایل فصل بهار فراوانی ظهور باندهای سبک در ارتفاعاتی که احتمال وقوع سرمای دیررس بهاره وجود دارد (عرض‌های بالاتر)، بیشتر از فراوانی ظهور این باندها در ارتفاعات فاقد سرمای دیررس (عرض‌های پایین‌تر) باشد. در اواخر شهریور ماه، به‌دلیل این که سرمای سخت زمستانه در ارتفاعات بالا زودتر شروع می‌شود، فراوانی ظهور باندهای کاتدی در این رویشگاه‌ها بیشتر می‌شود (Zolfaghari *et al.*, 2007) از طرف دیگر در برخی مطالعات ارتباط میان ظهور باندهای سنگین (آندی) آنزیم پراکسیداز با تولید بافت چوبی در گونه‌های درختی نظیر *Pinus sylvestris* L. ، *Fagus orientalis* Lipsky ، *Prunus avium* و *Prunus persica* گزارش شده است (Zolfaghari *et al.*, 2007; Neves, 2002; Abeles & Biles, 1991; Dalet & Cornu, 1989). اما نمونه‌برداری در تحقیق حاضر در اوایل فصل رویش انجام شد که زمان مناسب چوبی شدن و زمان شروع سرمای سخت زمستانه نبود. ولی در جنگل‌های مازندران وقوع سرمای دیررس بهاره در نهالستان‌های واقع در مناطق مرتفع (کوهستانی) گزارش شده است (Espahbodi *et al.*, 2013) در ارتفاعات پایین و در جلگه معمولاً پدیده سرمای دیررس رخ نمی‌دهد. لذا در تحقیق حاضر فعالیت کمی بیشتر پراکسیداز و نیز فراوانی بالاتر باندهای کاتدی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از پایه‌های افراپلت در ارتفاعات بالاتر از ۸۰۰ متر را می‌توان به آمادگی پایه‌های افراپلت برای مقابله با وقوع سرمای دیررس در این مناطق مربوط دانست. با این تفسیر اکوتیپ‌های مقاوم‌تر به سرمای دیررس را می‌توان در بین درختان رویشگاه‌های بالابند و میان‌بند جستجو کرد.

تفاوت رویشگاه‌های افراپلت با یکدیگر علاوه بر عکس‌العمل در مقابل سرمای دیررس می‌تواند معلول علت‌های دیگری نیز باشد. در این زمینه Demesure و همکاران (۲۰۰۰) در فرانسه، بهره‌برداری سنگین و آلودگی هوا را در پایین بودن تنوع ژنتیکی گونه‌های درختی موثر دانستند. با این حال آلودگی هوا تاکنون در جنگل‌های شمال ایران مشکل ساز نبوده است. بنابراین به‌نظر می‌رسد که عواملی نظیر بهره‌برداری بی‌رویه و وجود دام در جنگل‌های مازندران در تنوع نسبتاً اندک جمعیت واقع در رویشگاه پایین‌بند موثر باشد. ضمن اینکه Espahpodi (۲۰۰۵) با بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز و نیز بررسی‌های آزمون نتاج گزارش کرد که تنوع ژنتیکی بارانک (*Sorbus torminalis* L. Crantz) در رویشگاه‌های بالابند و حفاظتی، بیش‌تر از رویشگاه‌های تحت بهره‌برداری بود. بنابراین ممکن است در رویشگاه‌هایی که تنوع کمتری دارند (مانند رویشگاه پایین‌بند در مطالعه حاضر) اثر فشار ناشی از تخریب توسط روستائیان و یا چرای دام بیش‌تر باشد. این دو پدیده ضمن حذف تدریجی بسیاری از پایه‌های مادری گونه افراپلت، مانع از تولید بذر فراوان و نیز تولید نهال در بستر جنگل و یا به‌عبارتی باعث حذف نونهال‌های افرا خواهند شد. در همین ارتباط Kurt و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه کیفی آنزیم‌ها برای گونه سدر (*Cedrus libani* A. Rich)، علت بروز تنوع در چهار رویشگاه مورد مطالعه را به پدیده‌هایی

همچون شرایط اقلیمی متفاوت، از بین رفتن پیوستگی زیستگاه‌ها (Fragmentation) و جدایی جمعیت‌ها (Isolation) نسبت دادند. به عقیده آن‌ها با وقوع پدیده‌های یاد شده، انتخاب طبیعی سبب بروز تنوع در این گونه در جهت سازگاری با محیط می‌شود.

تفاوت در میزان فعالیت کمی پراکسیداز در درون هر رویشگاه را می‌توان ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی دانست. زیرا در درون هر رویشگاه شرایط اقلیمی ثابتی حاکم است. در مطالعه حاضر، نتایج بررسی تغییرات کمی آنزیم پراکسیداز نشان داد که در فصل نمونه‌برداری یکسان، پایه‌های موجود در رویشگاه بالابند دارای بیشترین فعالیت کمی آنزیم (بیشترین فعالیت فیزیولوژیکی بافت پوست) و پایه‌های موجود رویشگاه پایین‌بند دارای کمترین فعالیت کمی آنزیم بودند و از این لحاظ رویشگاه میان‌بند به‌عنوان گروه بینابینی معرفی شد.

در ضمن Zolfaghari و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه جوامع راش (*Fagus orientalis* Lipsky) واقع در ارتفاعات مختلف، تاثیر تنش (سرمای دیررس) بر فعالیت کمی آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز برای تولید بافت چوبی را نشان دادند. در همین رابطه Fagersedt و همکاران (۱۹۹۸) با بررسی گونه کاج (*Pinus sylvestris* L.) نشان دادند فعالیت کمی پراکسیدازها در انتهای فصل رشد (زمان شروع پدیده چوبی شدن) و در بافت‌های چوبی خارجی‌تر (به‌دلیل بیش‌تر بودن تعداد سلول‌های زنده) بیشترین مقدار را داشت. در بررسی فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در گونه *Prunus avium* افزایش فعالیت پراکسیداز طی پدیده چوبی شدن در زمان ریشه‌زایی توسط Dalet و Cornu (۱۹۸۹) نشان داده شد. همچنین Abeles & Biles (۱۹۹۱) در مطالعه فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در گونه *Prunus persica* L.، افزایش فعالیت کمی در بافت اندوکارپ میوه به‌دلیل پدیده چوبی شدن را گزارش کردند. بررسی فعالیت کمی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گونه هلو (*P. persica* L.) نشان داد که در زمان رسیدن میوه، در فعالیت کمی آنزیم‌های یاد شده تغییراتی روی می‌دهد (Neves, 2002).

همه مطالعات یاد شده ارتباط میان پدیده‌های فیزیولوژیکی مرتبط با تولید لیگنین و تغییر فعالیت‌های کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز را نشان می‌دهد. تغییرات اقلیمی با تاثیر بر روی این پدیده‌ها باعث تغییر فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز می‌شود. در مطالعه حاضر، کاهش دما در ارتفاعات بالاتر باعث افزایش فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز برای تولید لیگنین شد. به‌عبارت دیگر پایه‌های افراپلت در رویشگاه‌های مرتفع به‌تدریج برای مقابله با تنش‌های محیطی از جمله سرمای دیررس بهاره، سرمای زودرس پاییزه و یا سرمای شدید زمستانه تغییراتی در خود ایجاد کرده و با فعال سازی آنزیم‌ها مخصوصاً آنزیم پراکسیداز سازگاری بیشتری با شرایط اقلیمی پیدا می‌کنند. همچنین تفکیک رویشگاه بالابند از دو رویشگاه دیگر را می‌توان به‌عواملی نظیر تخریب، بهره‌برداری و وجود دام و یا عکس العمل گیاه در مقابل بروز شرایط سخت اقلیمی نظیر سرمای دیررس نسبت داد. نهایتاً پیشنهاد می‌شود از پایه‌های گونه افراپلت موجود در جمعیت‌های رویشگاه بالابند و میان‌بند جهت تولید نهال و جنگل‌کاری در مناطقی که بیم بروز سرمای دیررس وجود دارد استفاده شود.

منابع مورد استفاده

– Abeles, F.B. and Biles, C.H.L., 1991. Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. Plant Physiology, 95: 269-273.

– Aldaghi M., Rahimian H. and Mohammadi M., 2010. Comparison of phenotypic, serological and molecular characteristics of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains, the causal agents of bacterial canker of stone fruits and blight of cereals. Iranian Journal of Plant Pathology, 45: 317-336.

– Ali Ahmad Korori, S., 1993. Seasonal alternations of peroxidase enzyme and isoenzyme in *Larix deciduas* and its role in tree's resistance to chilling and ripening. Research and Reconstruction, 20: 14-16.

– Amani, M., Ekhlasi, Gh., Esmailnia, M., Hasani, M., Yazdani, Sh. and Beheshti, H., 1996. Preliminary results of qualitative, quantitative and silvicultural investigations in young plantation of Maple (*Acer velutinum* Boiss.). Research and Reconstruction, 31: 6-21.

– Anderson, M., Tottempudi, K. and Cecil, R., 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to

– Khorankeh, S., 2004. Determination of diameter growth for maple (Boiss. *Acer velutinum*) in Mazandaran east forest-Neka Zalemroud section 2. M.Sc. Thesis, Natural Resources Faculty of Mazandaran University, 125pp.
– Kurt, Y., Kaya, N. and Isik, K., 2008. Isozyme variation in four natural populations of *Cedrus libani* A.Rich. in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32: 137-145.
– Neves, V.A., 2002. Ionically bound peroxidase from peach fruit. Brazilian Archives of Biology and Technology, 45(1): 7-16.
– Raeisi, S., Jalali, S.G. and Espahbodi, K., 2011. An investigation of genetic variation of (*Quercus. castaneafolia* C. A. Mey) in Neka and Noor forest of Mazandaran using peroxidase activities. Taxonomy and Biosystematics, 2: 11-22.
– Rasaneh, Y., Moshtagh Kahnoee, M.H. and Salehi, P., 2001. A quantitative and qualitative study of northern forest. National Congress of Northern Forest Management and Constant Development, 1: 55-79.
– Sagheb-Talebi, Kh., 2000. Site demands and Lifestyle of maple (*Acer velutinus* Boiss.) in Kheiroudkenar forest. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 212: 79-150.
– Sagisaka, S., 1985. Injuries of cold acclimatized polar twigs resulting from enzyme inactivation and substrate during frozen and ambient for a long period. Plant and Cell physiology, 28: 1135-1145.
– Saho, A.C. and Mishra, D., 1987. Changes in Some enzyme activities during excised Rice leaf senescence under NaCl-stress. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 182: 501-505.
– Staszak, J., Grulke, N.E., Marrett, M.J. and Prus-Glowacki, W., 2007. Isozyme markers associated with O_3 tolerance indicate shift in genetic structure of Ponderosa and Jeffrey Pine in Sequoia national park, California. Environmental Pollution, 149: 366-375.
– Taek Jang, J., Tanade, K., Tamura, F., and Banno, K., 1991. Identification of *Pyrus* species by Peroxidase isozyme phenotype flower Buds. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 60: 513-519.
– Valipour Kahrood, H., Ali Ahmad Korori, S., Danehkar A. and Shirvani A., 2007. Changes in peroxidase isozymes in mangrove species (*Avicennia marina*) after exposure to heavy metals and oil pollutants. Iranian Biology, 20: 257-268.
– Zeidler, M., 2000. Electrophoretic analysis of plant isozymes. Biologica, 38: 7-16.
– Zolfaghari, R., Ali Ahmad Korori, S., and Etemad, V., 2007. Using Peroxidase and Catalase enzymes for identification of cold resistant individuals in Iranian Beech (*Fagus orientalis* Lipsky). Journal of Iranian Natural Resources., 60: 67-76.
chilling in mesocotyls of Maize seedlings. Plant Physiology, 109: 1247-1257.
– Babaei, F., Jalali, S.Gh.A. and Azadfar, D., 2012. Investigation of genetic variation in *Zelkova carpinifolia* by use of leaf peroxidase isozyme in three lowland habitats in north of Iran. Journal of Wood and Forest Science and Technology, 19: 121-133.
– Bednorz, L., Myczko, L. and Kosinski, P., 2004. Isozyme polymorphism and genetic structure of the population of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz from the Bytyn forest (Poland). Journal of Applied Genetics, 45: 321-324.
– Bennett, S.J., Hayward, M.D. and Marshall, D.F., 2002. Electrophoretic variation as a measure of species differentiation between four species of the genus *Lolium*. Genetic Resources and Crop Evolution, 49: 59-66.
– Colic, S., Milatovic, D.G. and Nicolic, G., 2010. Isoenzyme Polymorphism of almond genotypes selected in the region of northern Serbia. Horticulture Science (Prague), 37: 56-61.
– Conkle, M.T., 1972. Analyzing genetic diversity in Conifers, isozyme resolution by starch gel electorophoresis. Journal of Applied Genetics, 43: 61-75.
– Dalet, F. and Cornu, D., 1989. Lignification level and peroxidase activity during *in vitro* rooting of *Prunus avium*. Canadian Journal of Botany, 67: 2182-2186.
– Demesure, B., Guerroue, B.L., Lucchi, G., Part, D. and Petit, R.J., 2000. Genetic variability of a scattered temperate forest tree (*Sorbus torminalis* L. Crantz). Annals of Forest Science, 57: 63-71.
– Espahbodi, K., 2005. Genetic variation and effects of genotype and environment on the establishment and growth mountain ash (*Sorbus torminalis*). Ph.D Thesis, Tarbiate Modarres University. 74 pp.
– Espahbodi, K. and Khorankeh, S., 2013. Effect of planting date and seedling cover on seed germination of ash (*Fraxinus excelsior* L.) and decrease of spring late cold damage. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 21: 136-141.
– Fagersedt, K., Saranpaa, P., and Piispanen, R., 1998. Peroxidase activity, isonenzymes and histological localization in sapwood and heartwood of scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Journal of Forest Research, 3: 43-47.
– Horvath, E., Szalai, G., Pul, M., Puldi, E. and Janda, T., 2002. Differences between the catalase isozymes of Maize (*Zea mays* L.) in respect of inhibition by various phenolic compounds. Acta Biologica Szegediensis, 46: 33-34.
– Iranmanesh Y., Ali Ahmad Korori S., Espahbodi K. and Azadfar D., 2009. Comparision of qualitative and quantitative activities of peroxidase in different organs of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 17: 155-165.

Investigation on qualitative and quantitative changes of peroxidase isozyme in maple (*Acer velutinum*) at different altitudes of Mazandaran forests

R. Khaksar[1], M. Aldaghi[2]*, A. Salimi[3] and K. Espahbodi[4]

1 –M.Sc. student of Plant Sciences, University of Kharazmi, Tehran, I.R.Iran
2* -Corresponding author, Assist. Prof., Agriculture and Natural Resources Research Center, Mazandaran, I.R.Iran, Email: m_aldaghi@yahoo.com
3 –Assoc. Prof., University of Kharazmi, Tehran, I.R.Iran
4 -Assoc. Prof., Agriculture and Natural Resources Research Center of Mazandaran, I.R.Iran

Received:10.01.2015 Accepted:26.04.2015

Abstract

Peroxidase enzyme has considered by researchers as an indicator of physiological changes in plants. The main purpose of this study was investigation of qualitative and quantitative changes of peroxidase isozymes of maple in Hezarjarib forest in Mazandaran province, Iran. At middle of autumn, 30 maple trees were selected in three altitude ranges (less than 700, between 800 to 1000, more than 1500 meters above sea level). Samples were taken from trees trunk bark. After enzyme extraction from the samples, quantitative studies were performed by spectrophotometer and qualitative studies were done using polyacrylamide gel electrophoresis. Based on peroxidase activity on the bark of the maple trees, significant differences were observed between the sites in low-, mid- and high-lands. Accordingly, the three altitudinal sites in terms of quantitative enzyme activities were largely segregated from each other. Qualitative assays of peroxidase activity showed that the enzyme was efficient for studying genetic variation within and between maple habitats. Furthermore, the results indicated that frequency of emergence of cathodic bands in high-land and mid-land forests were more than that in low-land. This is probably related to the spring frost that can be attributed to the higher altitude of 800 meters.

Keywords: Maple, altitude, peroxidase, isozymes, electrophoresis.