دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
بوم‌شناسی جنگل‌های ایران

انتخاب بافت گیاهی مناسب و شرایط بهینه نگهداری آن جهت مطالعات آنزیمی روی پایه‌های پلت (*Acer velutinum* Boiss.)

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

۱- استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری
(نویسنده مسوول: m_aldaghi@yahoo.com)
۲- دانشیار بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری
۳ و ۴- استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، کرج
تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۹

چکیده

پلت یکی از مهم‌ترین گونه‌های تجاری جنگلی محسوب می‌شود. برای بررسی تنوع ژنتیکی، استفاده از آنزیم پراکسیداز به دلیل وجود چندشکلی‌های فراوان و حساسیت نسبتاً زیاد آن به شرایط محیطی، رایج است. تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز در شرایط متفاوت نگهداری نمونه‌های گیاهی و نیز در بافت‌های مختلف درخت پلت انجام شد. از بافت‌های مختلف (شاخه یک‌ساله، شاخه دوساله، پوست تنه و برگ) چهار پایه پلت نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در سه وضعیت یخچال معمولی (۴°C+)، فریزر (۲۰°C-) و نیتروژن مایع (۱۹۶°C-) تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شدند. نتایج بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز حاکی از ظهور ۱۱ باند آیزوزایمی بر روی ژل اکریل آمید بود که در ناحیه مولکول‌های سنگین و متوسط قرار داشتند. بیشترین جایگاه ظهور باندهای آیزوزایمی، در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال مشاهده گردید. برای شاخه‌های یک‌ساله و دوساله، تعداد جایگاه‌های ظهور باندها در نمونه‌های فریزر با نمونه‌های یخچال برابری می‌کرد و بیشتر از تعداد باندهای نمونه‌های نیتروژن مایع بود. در مورد نمونه‌های برگ تعداد جایگاه‌های ظهور باند در دو وضعیت نگهداری در یخچال و نیتروژن مایع با یکدیگر برابر و بیشتر از جایگاه‌های ظهور برای نمونه‌های فریزر بود. در نمونه‌های پوست تنه، بیشترین تعداد باند به نمونه‌های نگهداری شده در یخچال مربوط بود. از بین نمونه‌های نگهداری شده در یخچال، بیشترین فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز به‌ترتیب در نمونه‌های پوست تنه، برگ و شاخه (یک‌ساله و دوساله) مشاهده شد. درمجموع می‌توان گفت دمای ۴°C+ بهترین شرایط برای نگهداری بافت‌های مختلف و پوست بهترین بافت پلت برای مطالعات آنزیمی است.

واژه‌های کلیدی: پلت، شرایط نگهداری، بافت گیاهی، پراکسیداز، مطالعه آنزیمی

مقدمه

پلت (*Acer velutinum* Boiss.) که حدود ۵٪ از حجم جنگل‌های تجاری شمال کشور را تشکیل می‌دهد به‌دلیل کیفیت، ابعاد و حجم چوب تولیدی یکی از مهم‌ترین گونه‌های درختان جنگلی محسوب می‌شود (۳۴). رشد سریع، تکثیر آسان و بذردهی مطلوب سالانه آن باعث شد تا بخش مهمی از جنگل‌کاری‌های سالانه سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور به این‌گونه اختصاص یابد. دامنه وسیع انتشار پلت در شرایط مختلف اقلیمی جنگل‌های کوهستانی، از شرق تا غرب جنگل‌های شمال (گلیداغی تا قفقاز)، احتمال وجود تنوع در رویشگاه‌ها و مبدأهای بذر پلت را تقویت می‌کند. وجود تنوع، شانس اصلاح و دست‌یابی به ژنوتیپ‌های برتر را افزایش می‌دهد (۲۷،۳۶). این گونه در سایر جنگل‌های دنیا وجود ندارد (۵). در مطالعات مربوط به تنوع ژنتیکی، شناسایی ژنوتیپ‌ها و ارزیابی گونه‌ها همواره از نشانگرهای متفاوتی استفاده‌شده است (۹). ازجمله این نشانگرها، نشانگرهای آنزیمی هستند. تنوع آیزوزایمی (اشکال مولکولی مختلف یک آنزیم با خصوصیات آنزیمی مشابه) همواره موردتوجه متخصصان علوم فیزیولوژی، سیستماتیک، ژنتیک، زراعت و اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی بوده و اساس بسیاری از مطالعات در علوم مختلف زیستی و ازجمله کشاورزی است (۴۲). استفاده از آنزیم پراکسیداز برای بررسی تنوع ژنتیکی به دلیل وجود چندشکلی‌های فراوان، حساسیت نسبتاً زیاد نسبت به شرایط محیطی، آسانی مطالعه و ارتباط آن با تغییرات فیزیولوژیکی گیاه بسیار رایج است (۲۲). آنزیم پراکسیداز یک کاتالیزور مهم است که با حذف ماده سمی H_2O_2 در واکنش‌های دفاعی گیاهان در برابر عوامل تنش‌زا نقش مهمی دارد. این مسئله برای گونه‌های درختی مناطق معتدله که در طول زندگی با تغییرات زیادی در شرایط محیطی خود مواجه هستند، اهمیت بیشتری دارد (۶،۲۱،۴۰،۴۱). پراکسیداز در گونه‌های پهن‌برگ ایرانی مثل صنوبر، راش و بارانک دارای بالاترین چندشکلی بوده و تنوع را بسیار بهتر از سایر آنزیم‌ها نشان می‌دهد (۸). پراکسیداز در تنش‌های سرمایی، خشکی، آلودگی هوا و غیره به‌عنوان عاملی آنتی اکسیداتیو عمل می‌کند (۲۹،۳۸،۳۹). نتایج حاکی از تأثیر تنش سرما بر افزایش فعالیت آیزوزایم‌های پراکسیداز در برگ‌های اکالیپتوس در مقایسه با شاهد بود. به‌علاوه، گونه‌های مختلف اوکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*، *E. rubida* و *Esaligna*) ازنظر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی، متفاوت از یکدیگر ارزیابی گردیدند (۳۸). شمس‌آبادی و همکاران (۳۹) نشان دادند که با افزایش سطح خشکی، الگوی آیزوزایمی پراکسیداز در گیاه اسپرس تغییر کرده به‌طوری‌که تیمارهای تحت تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) در برگ و ساقه، و تیمارهای تحت تنش شدید (۲۵ درصد

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

فعالیت آنتی اکسیداتیو و حذف رادیکال‌های آزاد در بردباری این گیاه به تنش خشکی مؤثر است. مداح و همکاران (۲۹) نیز در بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و علت مقاومت درخت اقاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.) تحت تأثیر آلودگی هوا نشان دادند که بیشترین مقدار جذب آنتوسیانین و فعالیت آنزیم پراکسیداز در اقاقیا مربوط به نمونه‌های واقع در مناطق آلوده شهر و کمترین آن مربوط به نمونه‌های حاشیه شهر بود. در بررسی تنوع جوامع، الگوی باندی پراکسیداز کارایی قابل‌توجهی دارد (۲۰،۲۶،۳۸). در مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی سفید پلت، بیشترین میزان فعالیت کمّی پراکسیداز مربوط به رویشگاه مرزن آباد چالوس و کمترین آن مربوط به رویشگاه استخر پشت نکا و ازنظر فعالیت کیفی آنزیم، رویشگاه پارک جنگلی گلستان و استخر پشت نکا به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تنوع درون جمعیتی بودند. همچنین نشانگر آیزوزایمی پراکسیداز در تفکیک اکوتیپ‌های سفید پلت کارایی بیشتری نسبت به مورفولوژی برگ نشان داد (۲۰). کریمی و آزادفر (۲۶) در بررسی تنوع ژنتیکی سرخدار (*Taxus baccata* L.) با استفاده از آنزیم پراکسیداز نشان دادند که ازنظر فعالیت کمّی آنزیم اختلاف معنی‌داری بین شاخه و برگ وجود دارد. همچنین تعداد باندهای آیزوزایمی شاخه (۱۲ باند) بیشتر از باندهای آیزوزایمی برگ (۶ باند) بود. نتایج آنالیز خوشه‌ای نیز گروه‌بندی بیشتری را در شاخه (۱۲ گروه) نسبت به برگ (۸ گروه) نشان داد. بنابراین بافت شاخه در مقایسه با بافت برگ از توانایی بالاتری در بررسی تنوع ژنتیکی درختان سرخدار برخوردار بود. مقایسه و مطالعه تغییرات کمی و کیفی (آیزوزایمی) آنزیم‌های مختلف در بافت‌های متفاوت گیاهی با اهداف متفاوتی انجام‌شده و اطلاعات مفیدی را در اختیار محققین قرار داده است. تفاوت فعالیت آنزیمی در بافت‌های مختلف طی یک فصل خاص می‌تواند ناشی از تفاوت در فعالیت‌های فیزیولوژیکی بافت‌ها باشد. لذا با تجزیه و تحلیل داده‌ها، می‌توان بافت‌های مناسب برای مطالعه تنوع در یک‌گونه خاص را معرفی نمود. بر همین اساس فعالیت کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز در بافت‌های مختلف گونه بارانک (*Sorbus torminalis*) موردبررسی و مقایسه قرار گرفت (۲۲). جهت بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی گونه آزاد (*Zelkova carpinifolia*) از نشانگرهای آیزوزایمی و مورفولوژیکی استفاده گردید و آنزیم پراکسیداز از بافت شاخه برخلاف بافت برگ توانست تفاوت معنی‌داری را بین رویشگاه‌ها نشان دهد (۸). تغییرات آنزیمی در بافت‌های مختلف ذرت ازجمله ریشه، ساقه، برگ، خوشه و دانه گرده بررسی شدند که بافت‌های مختلف چندشکلی آیزوزایمی را نشان دادند (۳۷). نتایج بررسی‌ها در گونه *Paris quadrifolial* هم نشان‌دهنده وجود چندشکلی باندهای آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان موجود در رویشگاه‌های مختلف است. همچنین الگوی این آیزوزایم‌ها در برگ، دانه، ریشه و ریشه‌چه‌ها متفاوت بود (۲۵). مطالعه دیگری نشان داد که فعالیت کمی و کیفی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در هلو در زمان رسیدن میوه تغییر می‌کند (۳۲). افزایش فعالیت کمی و کیفی پراکسیداز در بافت‌های چوبی کاج (*Pinus sylvestris*) در فصل پاییز (زمان تشکیل چوب پسین) نیز گزارش‌شده است (۱۹). تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات کمی و کیفی (آیزوزایمی) پراکسیداز در شرایط مختلف نگهداری نمونه‌های گیاهی و نیز در بافت‌های مختلف پلت در منطقه جنگلی نکاء استان مازندران انجام شد. ازآنجایی‌که تنوع ژنتیکی در گونه پلت تاکنون مطالعه نشده است با مطالعه و انتخاب بهترین شرایط نگهداری و بافت گیاهی مناسب می‌توان مسیری را برای زمینه‌های مطالعاتی دیگر ازجمله تنوع درون و بین جمعیتی، طبقه‌بندی و تعیین روابط خویشاوندی، تنش‌های زیست–محیطی، به‌نژادی و اصلاح نباتات در گونه پلت پایه‌گذاری نمود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

برای تعیین مناسب‌ترین بافت جهت مطالعات آنزیمی، چهارپایه درخت پلت (به‌عنوان چهار تکرار) به‌طور تصادفی با رعایت فاصله ۱۰۰ متری از یکدیگر از یک رویشگاه جنگلی در روستای چلمردی شهرستان نکاء– مازندران واقع در ارتفاع پایین‌بند (کمتر از ۷۰۰ متر از سطح دریا) انتخاب شد و در شهریور ماه، از بافت‌های مختلف (شاخه یک‌ساله، شاخه دوساله، پوست تنه و برگ) در جهات مختلف این چهارپایه نمونه‌برداری صورت گرفت. برای هر نمونه نیز سه تکرار در نظر گرفته شد. نمونه‌ها درون کیسه نایلونی در مجاورت یخ قرارگرفته و بلافاصله به آزمایشگاه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران منتقل شدند. سپس نمونه‌ها برای نگهداری در سه وضعیت متفاوت یخچال (۴°C+)، فریزر (۲۰°C–) و نیتروژن مایع (۱۹۶°C–) به سه بخش تقسیم و تا زمان عصاره‌گیری (یک هفته بعد) در شرایط مذکور نگهداری شدند.

استخراج آنزیم پراکسیداز

نیم گرم از هر نمونه بافت نگهداری شده در شرایط متفاوت، درون هاون چینی در مجاورت نیتروژن 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 به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد در ۳۰۰۰×g سانتریفیوژ گردید. محلول شفاف بالایی، به تیوب‌های تمیز منتقل و تا زمان مصرف در فریزر نگهداری گردید (۳).

بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز

نمونه‌های آنزیمی استخراج‌شده بر روی ژل پلی اکریل آمید (PAGE) طبق روش الداغی و همکاران (۲) با اندکی تغییر الکتروفورز گردید. در این روش از سیستم بافر ناپیوسته و ژل ناواسرشت ۱۰ درصد متمایزکننده و ۴ درصد متراکم کننده استفاده شد. مقدار ۴۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی هر نمونه پس از مخلوط کردن با بافر نمونه درون چاهک‌های ژل تزریق شد. دمای ژل در طول انجام کار با کمک سیستم

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

پس از مخلوط کردن با بافر نمونه درون چاهک‌های ژل تزریق شد. دمای ژل در طول انجام کار با کمک سیستم خنک‌کننده پایین نگه‌داشته شد. الکتروفورز در شدت جریان ۸۰ میلی‌آمپر تا رسیدن سطح رنگ پیشرو به انتهای ژل ادامه یافت. برای رنگ‌آمیزی، ژل به مدت یک الی دو ساعت در ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول رنگ‌آمیزی شامل ۰/۰۳۷ گرم بنزیدین، ۱/۱۵ میلی‌لیتر اسید استیک، ۲/۷۲ گرم استات سدیم آبدار و ۲۰ میلی‌لیتر آب‌اکسیژنه ۳٪ قرار داده شد و پس از شستشو با آب مقطر موردمطالعه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل الگوی باندهای آیزوزایمی

باندهای آیزوزایمی واقع در ابتدا تا انتهای ژل به ترتیب شماره‌گذاری شدند. این باندها بر اساس میزان حرکت نسبی بر روی ژل به سه گروه باندهای آیزوزایمی سنگین، متوسط و سبک تقسیم‌بندی شدند. سپس زایموگرام‌های مربوط به الگوی باندهای آیزوزایمی ترسیم شدند. درنهایت، داده‌های صفر و یک مربوط به حضور یا عدم حضور باندهای آیزوزایمی در بافت‌ها و شرایط متفاوت نگهداری نمونه‌ها برای هر چهارپایه درختی مشخص شد و تجزیه‌وتحلیل انتخاب بهترین بافت و شرایط نگهداری بر این اساس انجام گرفت.

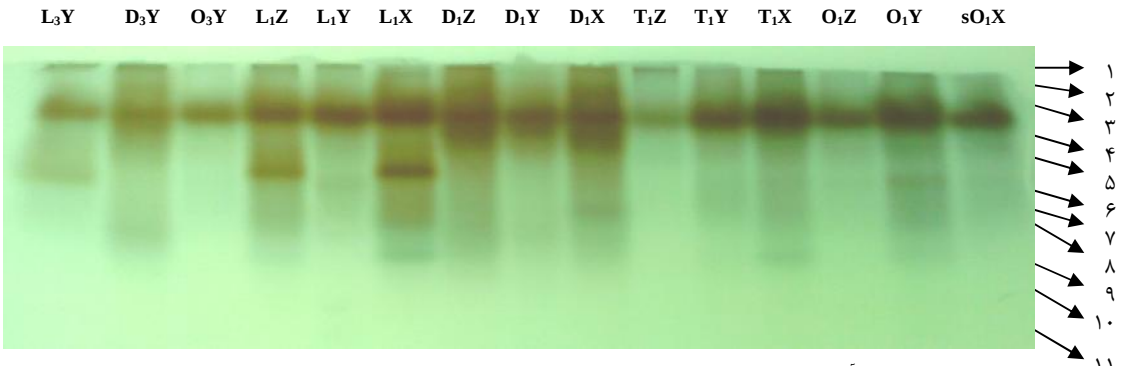
بررسی فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز

فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر طبق روش ابلس و بیلس (۱) با اندکی تغییر سنجیده شد. مخلوط واکنش (شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲۵ میکرولیتر بنزیدین (۰/۰۰۱ مولار)، ۲۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۰/۰۰۱ مولار) و ۴۰۰ میکرولیتر بافر استات (۰/۰۵ مولار، اسیدیته ۵) بلافاصله پس از بیرون آوردن از انکوباتور (۳۷°C–۳۰) در اسپکتروفتومتر قرار داده شد و سریعاً میزان جذب نوری نمونه در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. عمل خواندن در فواصل زمانی ۳۰ و ۶۰ ثانیه ادامه یافت. ترکیب نمونه شاهد مشابه مخلوط واکنش بود به‌جز این‌که بجای عصاره آنزیمی در آن از بافر عصاره‌گیری استفاده شد (۱).

نتایج و بحث

انتخاب بهترین شرایط نگهداری نمونه‌های گیاهی

در این آزمون به‌طورکلی ۱۱ باند آیزوزایمی بر روی ژل پلی اکریل آمید ظاهر گردید که در ناحیه مولکول‌های سنگین و متوسط قرار داشتند (شکل ۱). به‌عبارت‌دیگر، فراوانی باندها در ناحیه آندی زیاد و به‌تدریج با نزدیک شدن به ناحیه کاتدی، باندهای آیزوزایمی به‌طور کامل حذف شدند. با ارزیابی ژل‌های رنگ‌آمیزی شده جهت تعیین ظهور یا عدم ظهور باندهای آیزوزایمی، شماره و تعداد جایگاه‌های ظهور باند در هر نمونه مشخص شد (جدول ۱). مقایسه وضعیت‌های متفاوت نگهداری نمونه‌ها (درمجموع چهارپایه) نشان داد که به‌طورکلی بیشترین درصد جایگاه‌های ظهور باندهای آیزوزایمی، ابتدا در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال مشاهده شد. در مورد شاخه‌های یک‌ساله و دوساله، تعداد جایگاه‌های ظهور مربوط به نمونه‌های فریزر با نمونه‌های یخچال برابری می‌نمود و تعداد جایگاه‌های ظهور در نمونه‌های نیتروژن مایع در رده بعدی قرار گرفتند. برعکس، در مورد برگ تعداد جایگاه‌های ظهور باند در دو وضعیت نگهداری در یخچال و نیتروژن مایع با یکدیگر برابر و بیشترین بود و تعداد جایگاه‌های ظهور برای نمونه‌های فریزر در رتبه بعدی قرار گرفت. در نمونه‌های پوست تنه، دو وضعیت نگهداری نیتروژن مایع و فریزر از این لحاظ رتبه دوم (بعد از نمونه‌های نگهداری شده در یخچال) را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). لذا بر اساس بیشترین درصد جایگاه‌های ظهور باندهای آیزوزایمی، مناسب‌ترین شرایط برای نگهداری نمونه‌های بافت‌های شاخه (یک‌ساله و دوساله) یخچال (۴°C+) یا فریزر (۲۰°C–) بود. اما برای نگهداری نمونه‌های برگ، دو وضعیت یخچال یا نیتروژن مایع به‌عنوان مناسب‌ترین وضعیت معرفی گردید. همچنین برای نمونه‌های پوست، یخچال به‌عنوان مناسب‌ترین وضعیت نگهداری معرفی شد. درمجموع می‌توان گفت که یخچال (۴°C+) بهترین شرایط را برای نگهداری نمونه‌های مختلف (شاخه یک‌ساله، شاخه دوساله، برگ و پوست تنه) ازلحاظ ظهور بیشترین باند آیزوزایمی داراست (جدول ۱).



شکل ۱– نمونه‌ای از الگوهای آیزوزایمی بافت‌های مختلف برای پایه شماره ۱ و ۳ در شرایط متفاوت نگهداری [یخچال (X)، فریزر (Y) و نیتروژن مایع (Z)]. O_1 (شاخه یک‌ساله درخت شماره یک)، O_3 (شاخه یک‌ساله درخت شماره سه)، T_1 (شاخه دوساله درخت شماره یک)، D_1 (پوست تنه درخت شماره یک)، D_3 (پوست تنه درخت شماره سه)، L_1 (برگ درخت شماره یک)، L_3 (برگ درخت شماره سه). باندهای آیزوزایمی (شماره ۱۱–۱) در سمت راست شکل مشخص‌شده‌اند.

Figure 1. A sample of isozyme patterns of different tissues for trees No. 1 and 3 in different maintenance conditions [refrigerator (X), freezer (Y) and nitrogen liquid (Z)]. O_1 (one-year old branch of tree No. 1), O_3 (one-year old branch of tree No. 3), T_1 (two-year old branch of tree No. 1), D_1 (trunk bark of tree No. 1), D_3 (trunk bark of tree No. 3), L_1 (leaf of tree No. 1), L_3 (leaf of tree No. 3). Isozyme bands (Nos. 1-11) were indicated on the right of the figure.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

جدول ۱– مقایسه نوع بافت و شرایط نگهداری از لحاظ جایگاه‌های ظهور باندهای آیزوزایمی پراکسیداز (الف)
Table 1. Comparing of the tissue types and maintenance conditions in terms of peroxidase band isozyme positions.

بافت موردبررسی	وضعیت نگهداری	جایگاه‌های ظهور باند	تعداد جایگاه‌های ظهور باند در هر نمونه (ب)	درصد جایگاه‌های ظهور باند در هر نمونه	متوسط درصد جایگاه‌های ظهور باند در هر نوع بافت
شاخه یک‌ساله	یخچال	۱، ۴، ۶، ۷، ۹ و ۱۰	۶	۵۴	
شاخه یک‌ساله	فریزر	۱، ۴، ۶، ۷، ۱۰ و ۱۱	۶	۵۴	۵۱
شاخه یک‌ساله	نیتروژن مایع	۱، ۴، ۶، ۷ و ۹	۵	۴۵	
شاخه دوساله	یخچال	۱، ۴، ۶، ۷، ۹ و ۱۱	۶	۵۴	
شاخه دوساله	فریزر	۱، ۴، ۶، ۷، ۸ و ۹	۶	۵۴	۵۱
شاخه دوساله	نیتروژن مایع	۱، ۴، ۶، ۷و ۹	۵	۴۵	
پوست تنه	یخچال	۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۹ و ۱۰	۹	۸۲	
پوست تنه	فریزر	۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۱۰	۷	۶۴	۷۰
پوست تنه	نیتروژن مایع	۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۱۰	۷	۶۴	
برگ	یخچال	۱، ۳، ۴، ۶، ۷، ۹، ۱۰ و ۱۱	۸	۷۳	
برگ	فریزر	۱، ۴، ۶، ۷، ۸ و ۹	۶	۵۴	۶۷
برگ	نیتروژن مایع	۱، ۲، ۴، ۶، ۷، ۹، ۱۰ و ۱۱	۸	۷۳	

الف : نتایج حاصل برآیند داده‌های پایه‌های مختلف می‌باشد و ب : تعداد کل جایگاه‌های ظهور باند در نمونه‌ها ۱۱عدد بود

انتخاب بهترین بافت گیاهی

در این مرحله، نمونه‌های چهار بافت موردبررسی در وضعیت‌های نگهداری یکسان با یکدیگر مقایسه شدند. مطلوب‌ترین نتایج هنگامی حاصل می‌گردد که عمل مقایسه میان نمونه‌های نگهداری شده در یخچال صورت گیرد. زیرا این شرایط نگهداری برای هر چهار بافت، بهترین وضعیت محسوب گردید. اما سایر وضعیت‌های نگهداری (فریزر و نیتروژن مایع)، هیچ‌کدام به‌طور مشترک برای همه بافت‌ها به‌عنوان وضعیت مناسب (یا مناسب‌ترین وضعیت) نگهداری شناخته نشدند. از میان نمونه‌های نگهداری شده در یخچال، بیشترین درصد جایگاه‌های ظهور باندهای آیزوزایمی، ابتدا در نمونه‌های پوست تنه، سپس در نمونه‌های برگ و نهایتاً در نمونه‌های شاخه (یک‌ساله و دوساله) مشاهده شد (جدول ۱). در مقایسه نمونه‌های نگهداری شده در فریزر نیز پوست تنه ازلحاظ درصد جایگاه‌های ظهور باندها، در رتبه اول قرار گرفت. در مورد نمونه‌های نگهداری شده در فریزر، درصد جایگاه‌های ظهور باندها در نمونه‌های برگ و شاخه‌ها (یک‌ساله و دوساله) با یکدیگر برابر و در رتبه دوم بعد از نمونه‌های پوست تنه قرار داشتند. در مقایسه نمونه‌های نگهداری شده در نیتروژن مایع، نمونه‌های برگ ازلحاظ درصد جایگاه‌های ظهور باندها در رتبه اول، نمونه‌های پوست تنه در رتبه دوم و نمونه‌های شاخه (یک‌ساله و دوساله) از این لحاظ در رتبه سوم قرار گرفتند. به‌طورکلی در هر سه وضعیت نگهداری، نمونه‌های شاخه (یک‌ساله و دوساله) کمترین درصد ظهور باندهای آیزوزایمی را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). لذا بر اساس بررسی‌های انجام شده، پوست تنه با متوسط ظهور باند ۷۰ درصدی به‌عنوان بهترین بافت برای بررسی تنوع آیزوزایمی معرفی شد. پس از این بافت، به ترتیب برگ و شاخه‌ها (یک ساله و دوساله) به‌ترتیب با ۶۷ و ۵۱ درصد در رتبه‌های دوم و سوم قرار گرفتند (جدول ۱).

از لحاظ ظهور باندهای اختصاصی و مشترک، مقایسه‌ای در بین بافت‌ها انجام شد. باند شماره ۵ به‌عنوان باند آیزوزایمی اختصاصی در نمونه‌های پوست تنه (در هر سه شرایط نگهداری) معرفی گردید. باندهای شماره ۱، ۴، ۶ و ۹ به‌عنوان باند آیزوزایمی مشترک میان همه بافت‌ها شناسایی شدند. همچنین باندهای شماره ۲ و ۳ به‌عنوان باند آیزوزایمی اختصاصی در نمونه‌های پوست تنه و برگ معرفی شدند (این باندها در نمونه‌های شاخه‌های یک‌ساله و دوساله ظاهر نشدند). همچنین باند مشترک بین نمونه‌های شاخه (یک‌ساله و دوساله) و برگ، باندهای شماره ۷ و ۱۱ بودند. به‌علاوه، در منطقه مولکول‌های سنگین آنزیمی باند شماره ۴ (با بیشترین قوت و حاضر در تمام نمونه‌ها و شرایط متفاوت نگهداری) به‌عنوان باند آیزوزایمی پایه برای گونه پلت معرفی گردید (شکل ۱ و جدول ۱).

بررسی فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز

برای نمونه‌های پوست تنه، برگ، شاخه یک‌ساله و شاخه دوساله در وضعیت‌های مختلف نگهداری، فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز طی زمان‌های ۳۰ و ۶۰ ثانیه بعد از افزودن پراکسید هیدروژن، به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. تفاوت بین نمونه‌های موردبررسی ازنظر فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در ۶۰ ثانیه در سطح احتمال ۹۹٪ معنی‌دار شد. مشابه نتایج فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز، بافت پوست دارای بالاترین فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در بین نمونه‌های مورد بررسی بود. از این حیث، بافت برگ، شاخه دوساله و شاخه یک‌ساله به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. همچنین بالاترین فعالیت کمی آنزیم در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال و سپس در نمونه‌های نیتروژن مایع و فریزر ردیابی شد. در مطالعه حاضر شرایط مطلوب برای انجام مطالعات آنزیمی در پایه‌های پلت از بابت بهترین شرایط نگهداری نمونه‌های گیاهی و مناسب‌ترین بافت جهت عصاره‌گیری آنزیمی مورد آزمون قرار گرفت. بر اساس بررسی‌های انجام‌شده، درمجموع می‌توان گفت دمای ۴°C+ بهترین شرایط برای نگهداری بافت‌های مختلف (شاخه یک‌ساله، دوساله، برگ و پوست) به دلیل ظهور بیشترین باند آیزوزایمی نسبت به دیگر شرایط (فریزر و نیتروژن مایع) را داراست. در همین رابطه، در بررسی باندهای آیزوزایمی در گونه سدر

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

(*Cedrus libani*) نمونه‌های بذر پس از جمع‌آوری تا زمان عصاره‌گیری در دمای ۴°C+ نگهداری شدند (۲۸). همچنین نمونه‌های برگ گونه پده (*Populus euphratica*) برای مطالعه الگوهای آیزوزایمی در ۴°C+ ذخیره گردیدند (۱۱). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که دمای بهینه برای فعال ماندن آنزیم پراکسیداز در گونه پلت در محدوده دمایی یخچال قرار دارد. به‌عبارت‌دیگر آنزیم پراکسیداز در محدوده دمایی یخچال بیشترین فعالیت خود را برای یک دوره زمانی حفظ می‌کند و یا حتی ادامه می‌یابد (در شرایط فریزر و نیتروژن مایع فرآیند تولید آیزوزایم‌ها محدود می‌گردد). در مقایسه الگوهای آیزوزایمی در چهار بافت مختلف، پوست تنه بیشترین درصد ظهور باندهای آیزوزایمی را به خود اختصاص داد (نه جایگاه از مجموع ۱۱ جایگاه ظهور باند) و لذا به‌عنوان مناسب‌ترین بافت برای بررسی تنوع ژنتیکی پلت از طریق تغییرات آنزیمی معرفی می‌گردد. البته این نتیجه‌گیری ممکن است بر اساس گونه و فصل نمونه‌برداری متفاوت باشد. در همین رابطه شمس و همکاران (۳۸) نشان دادند که فعالیت این آنزیم در مراحل مختلف به فاکتورهای متعددی ازجمله گونه گیاهی بستگی دارد. گونه‌های مختلف بدلیل تفاوت‌های ژنتیکی، دارای فعالیت‌های فیزیولوژیکی متفاوتی حتی در سطح اندام‌های مختلف بوده (۴) و افزون بر آن فرایندهای فیزیولوژیکی (و ازجمله فعالیت آنزیمی) در برخی اندام‌ها از فصلی به فصل دیگر تحت تأثیر عوامل محیطی دستخوش کاهش یا افزایش می‌شوند. لیگنینی شدن پوست ازجمله این موارد می‌باشد که در زمان خاصی در گیاهان برای افزایش مقاومت به سرما صورت می‌گیرد. آنزیم پراکسیداز (آنزیم مؤثر در مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو) نقش مهمی در این پدیده دارد (۷). بررسی رابطه بین فعالیت پراکسیداز و چوبی شدن آوند آبکش در ساقه گونه‌های کاج، نوئل و غان نشان داد که فعالیت پراکسیداز در شروع دوره رشد و چوبی شدن افزایش می‌یابد (۳۰). تغییرات دمایی بر الگو و فعالیت آیزوزایم‌ها نیز مؤثر است. در برخی گونه‌های جنگلی حداکثر فعالیت آنزیم پراکسیداز در فصول سرد سال گزارش‌شده است (۴۳،۳۸). از طرفی قسمت‌های مختلف گیاه دارای الگوهای پروتئینی ثابتی نبوده و هر قسمت دارای الگوی پروتئینی خاص خود است که معرف سیستم فیزیولوژیک آن قسمت از گیاه است (۳۸). معمولاً نمونه شاخه و پوست تنه در درختان معرف قسمت پایدارتر گیاهی و نمونه برگ معرف قسمت ناپایدار و تولیدکننده غذا (فتوسنتز) است (۴) که این نکته تأکیدی بر این امر است که پوست تنه و شاخه با توجه به پایداری بیشتر، اندام مناسب‌تری جهت مطالعات آنزیمی می‌باشد. در اواخر تابستان که فصل رویش رو به پایان است برگ‌ها به زمان خزان خود نزدیک می‌شوند و لذا فعالیت آنزیمی نمونه‌های برگ نسبت به پوست کمتر می‌باشد. در این ارتباط برای بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز در گونه آزاد (*Zelkova karpinifolia*) در اواخر فصل تابستان، برگ و شاخه دوساله مناسب‌ترین بافت معرفی گردید (۸) درحالی‌که برای گونه بارانک (*Sorbus torminalis*) شاخه یک‌ساله به‌عنوان مناسب‌ترین بافت برای مطالعات آنزیمی پراکسیداز گزارش شد (۲۲،۱۸،۱۶). در بررسی تنوع ژنتیکی بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) در پنج رویشگاه مازندران نیز با مطالعه بافت‌های شاخه یک‌ساله، شاخه دوساله، پوست و برگ، شاخه یک‌ساله به‌عنوان بهترین بافت (برای اواسط فصل بهار) معرفی شد (۳۵). در همین راستا نمونه‌های برگ گونه پده (*P. euphratica*) برای مطالعه آنزیم پراکسیداز، مناسب تشخیص داده شدند (۱۱). ازنظر فعالیت کمی و کیفی آنزیم اختلاف معنی‌داری بین شاخه و برگ سرخدار مشاهده شد و اندام شاخه در مقایسه با برگ از توانایی تفکیک و گروه‌بندی بالایی در بررسی تنوع ژنتیکی درختان سرخدار برخوردار بود (۲۶). بااین‌حال سهولت تهیه نمونه نیز در بعضی مواقع اهمیت پیدا می‌کند (۲۲). میزان فعالیت آنزیمی در ساقه اسپرس تحت استرس خشکی بیش از اندام برگ گزارش گردید اما تحت استرس شدید، ریشه بیشترین فعالیت آنزیمی را نشان داد (۳۹). علی احمدکروری (۴) نحوه واکنش قسمت‌های مختلف *Larix europea* را تحت تیمارهای مختلف دمایی بررسی کرد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت پراکسیدازی در نمونه‌های شاخه چندین برابر برگ و بذر است. در مطالعه پرهیزکار و همکاران (۳۳) فعالیت پراکسیدازی پایه‌های اوکالیپتوس در بعضی ماه‌ها نزدیک به هم و در بعضی ماه‌ها اختلاف زیادی با یکدیگر داشته و هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ و شاخه مشاهده نشد. در مطالعه حاضر به‌طورکلی ۱۱ باند آیزوزایمی روی ژل پلی اکریل آمید مشاهده شد. یک باند به‌عنوان باند آیزوزایمی پایه برای گونه پلت، چهار باند آیزوزایمی به‌عنوان باندهای آیزوزایمی مشترک در میان همه بافت‌های موردمطالعه، و تعدادی از باندها به‌عنوان اختصاصی در یک یا چند بافت معرفی گردیدند. برخی محققان نشان دادند که ظهور باند پایه، ناشی از منشأ ژنتیکی مشترک بافت‌ها بوده و عوامل محیطی تأثیر کمتری در ظهور این باند دارند (۱۴،۱۰). برخی دیگر ظهور این باند را در جمعیت‌های واقع در رویشگاه‌های متفاوت به توانمندی گیاه در پاسخ به عوامل اکولوژیک نسبت دادند (۲۲،۲۱،۳). وجود یک یا چند باند اختصاصی در هر بافت نمایانگر توانایی‌های فیزیولوژیک متفاوت آن‌ها است که آنزیم پراکسیداز به‌تنهایی یا با کمک سایر آنزیم‌ها در این فرآیندهای فیزیولوژیک همکاری می‌نماید (۳۱،۲۲،۴). لذا بخش مشترک فعالیت‌های آیزوزایمی در بافت‌های مختلف می‌تواند ناشی از بعضی همکاری‌های مشترک بافت‌ها با یکدیگر باشد (۲۳،۸). در تحقیق حاضر وجود این جایگاه‌های باندی مشترک می‌تواند نشان‌دهنده تولید آیزوزایم‌های مشترک در همه بافت‌های مورد بررسی در مواجه با تنش‌های زنده و غیر زنده باشد. در مطالعه حاضر، فراوانی باندهای کاتدی از فراوانی باندهای آندی کمتر بود. اگرچه به‌طورکلی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز که جزء آنزیم‌های اکسیداتیو (تجزیه‌کننده H_2O_2) می‌باشد در فصل زمستان بیشتر است (۲۴،۱۲). اما تغییر فراوانی باندهای آیزوزایمی سنگین (آندی) و سبک (کاتدی) می‌تواند به فصل نمونه‌برداری هم مربوط باشد. مثلاً ظهور باندهای آیزوزایمی کاتدی برای مقابله با تنش‌های سرمایی در فصول سرد بیشتر

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

می‌باشد. به همین دلیل چنانچه در فصل زمستان نمونه‌برداری انجام شود، انتظار می‌رود باندهای آیزوزایمی کاتدی با فراوانی بیشتر ظاهر شوند. این یافته در بررسی پایه‌های مقاوم به سرما در گونه راش شرقی (*Fagus orientalis*) با استفاده از فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز ثابت‌شده است (۴۴). در بررسی تنوع ژنتیکی بلندمازو در پنج رویشگاه مازندران با نمونه‌برداری در ماه اردیبهشت نیز ظهور باندهای آنزیمی پراکسیداز تنها در محل باندهای سنگین و متوسط گزارش شد (۳۵). بنابراین یکی از دلایل کاهش فراوانی باندهای کاتدی در تحقیق حاضر می‌تواند به فصل نمونه‌گیری که در تابستان صورت گرفته، مربوط باشد. ساختار پروتئینی آنزیم‌ها (=آیزوزایم‌ها) در این رابطه تأثیرگذار است که به‌شدت روی فعالیت آن‌ها (تحت تأثیر فصل) مؤثر می‌باشد. پلت گونه‌ای حساس به شوک‌های سرمایی مخصوصاً در سنین اولیه می‌باشد. بااین‌حال درختان بالغ آن در ارتفاعات بالاتر از ۱۵۰۰ و حتی تا ارتفاع ۲۰۰۰ متر رویش دارند (۱۷). با توجه به حضور پلت در ارتفاعات یادشده، می‌توان آن را در گروه درختانی قرار داد که آنزیم پراکسیداز در اندام‌های آن در فصول سرد فعالیت بیشتری دارد. همچنین در مطالعه حاضر فعالیت کمی بیشتر آنزیم پراکسیداز در بافت پوست تنه نسبت به بافت‌های برگ، شاخه یک‌ساله و دوساله به ثبت رسید. دلیل این موضوع این است که چون گیاه می‌بایست در اواخر تابستان به‌تدریج خود را برای مقابله با شرایط سخت زمستان با فعال‌سازی آنزیم‌های مربوط به دفاع و تنش آماده سازد و از طرفی این اتفاق می‌بایست بیشتر در خارجی‌ترین بافت گیاه یعنی پوست تنه صورت پذیرد لذا فعالیت کمی بالاتر پراکسیداز در این بافت از این حیث قابل توجیه می‌باشد. در گونه بارانک با بررسی روند تغییرات فعالیت کمی و الگوی باندهای آیزوزایمی در قسمت‌های مختلف تنه درخت نشان داد که درمجموع بخش پوست نسبت به بخش چوب فعالیت آنزیمی بیشتری به دلیل کاهش میزان سلول‌های زنده از پوست به سمت قسمت‌های درونی‌تر در تنه درخت دارد (۲۲). بررسی گونه کاج (*Pinus sylvestris* L.) نشان داد که فعالیت کمی پراکسیدازها در انتهای فصل رشد (زمان تشکیل چوب پسین) و در بافت‌های چوبی خارجی‌تر (به دلیل بیشتر بودن تعداد سلول‌های زنده) بیشترین مقدار را دارا است (۱۹). به‌طور مشابه، در گونه *Prunus avium* افزایش کمی فعالیت پراکسیداز طی پدیده چوبی شدن در زمان ریشه‌زایی نشان داده‌شده است (۱۵). در مطالعه جوامع راش واقع در ارتفاعات مختلف، تأثیر تنش سرمایی بر فعالیت کمی آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز برای تولید بافت چوبی نیز گزارش‌شده است (۴۴). در همین راستا، با مطالعه آنزیم پراکسیداز در گونه *Prunus persica*، افزایش فعالیت کمی آنزیم در بافت اندوکارپ میوه به دلیل پدیده چوبی شدن گزارش گردید (۱). پراکسیداز آنزیم شاخص تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان است و برای نشان دادن تغییرات ژنتیکی و بررسی تنوع در جوامع گیاهی کارآمد است (۱۳). مطالعه حاضر نیز ارتباط میان پدیده‌های فیزیولوژیکی گیاه پلت و تغییر فعالیت‌های کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز را نشان می‌دهد. این موضوع کارآمد بودن مطالعه تغییرات فعالیت این آنزیم به‌خصوص در بافت پوست تنه برای تحقیقات آینده در مباحثی همچون تنوع و ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های پلت را ثابت می‌نماید.

منابع

1. Abeles, F.B. and C.L. Biles. 1991. Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. Plant Physiology, 95: 269-273.
2. Aldaghi, M., H. Rahimian and M. Mohammadi. 2010. Comparison of the phenotypic serological and molecular characteristics of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains, the causal agent of bacterial canker disease of stone fruit trees and leaf blight of cereals. Iranian Journal of Plant Pathology, 45: 317-336 (In Persian).
3. 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. Pajouhesh and Sazandeghi, 20: 14-16 (In Persian).
4. Ali Ahmad Korori, S. 1999. Survey of the manner of enzymes response in wild trees to environmental factors changes (Papers collection). Research Institute of Forests and Rangelands Press, 392pp (In Persian).
5. Amani, M., Gh. Ekhlasi, M. Esmaeilnia, M. Hasani, Sh. Yazdani and H. Beheshti. 1996. Preliminary results of qualitative and quantitative and silvicultural investigations in young plantation of maple (*Acer velutinum* Boiss.). Pajouhesh and Sazandeghi, 31: 6-21 (In Persian).
6. Anderson, M., K. Tottempudi and R. Cecil. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. Plant Physiology, 109: 1247-1257.
7. Azadfar, D., S. Ali Ahmad Korori, G. Haddadchi, M. Akbarynia and G.A. Galali. 2004. Study of peroxidase and alpha-amylase activities in different growth stages of beech (*Fagus orientalis* Lipsky). Pajouhesh and Sazandgi, 62: 25-31.
8. Babaei, B., S.Gh.A. Jalali and D. Azadfar. 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.
9. Bednorz, L., L. Myczko and P. kosinski. 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.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

10. Bennett, S.J., M.D. Hayward and D.F. Marshall. 2002. Electrophoretic variation as a measure of species differentiation between four species of the genus *Lolium*. Genetic Resources and Crop Evolution, 49: 59-66.
11. Calagari, M., A. Jafari, M. Tabari and S.M. Hoseini. 2007. Genetical variation on natural populations of *Populus euphratica* Oliv. by peroxidase isoenzyme. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 15: 115-122 (In Persian).
12. Citadin, I., M.C.B. Reseira, F. Augustine, F. Herter, A.D. Campos and C.A.P. Silveira. 2000. Relationship of peroxidase, 6-phosphogluconate dehidrogenase and phosphoglucoisomerase to endodormancy phase peach. Acta Horticulturae, 562: 451-457.
13. Colic, S., D.G. Milatovic and G. Nicolic. 2010. Isoenzyme polymorphism of almond genotypes selected in the region of northern Serbia. Horticultural Science (Prague), 37: 56-61.
14. Conkle, M.T. 1972. Analyzing genetic diversity in conifers, isozyme resolution by starch gel electorophoresis. Journal of Applied Genetics, 43: 61-75.
15. Dalet, F. and D. Cornu. 1989. Lignification level and peroxidase activity during *in vitro* rooting of *Prunus avium*. Canadian Journal of Botany, 67: 2182-2186.
16. Espahbodi, K. 2005. Investigation of genetic variation and effects of genotype and environment on establishment and growth of wild service tree seedlings. PhD Thesis, Tarbiat modarres University, Faculty of Natural Resources, 84 pp (In Persian).
17. Espahbodi, K. and S. Khorankeh. 2013. Effect of sowing date on velvet maple seed germination and late spring frost damage. Journal of Conservation and Utilization of Natural Resources, 1: 27-44.
18. Espahbodi, K., H. Mirzaiee Nadoushan, M. Tabari, M. Akbarinia and Y. Dehghan Shooraki. 2006. Genetic variation in leaf and fruits of *Sorbus torminalis* (L.) crantz. Pajouhesh and Sazandegi, 72: 44-57 (In Persian).
19. Fagerstedt, K., P. Saranpaa and R. Piispanen. 1998. Peroxidase activity, isoenzymes and histological localization in sapwood and heartwood of scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Journal of Forest Research, 3: 43-47.
20. Fallah, H., M. Tabari, D. Azadfar and F. Babaie. 2012. Investigation of genetic diversity in endangered stands of *Populus caspica* Bornm. of sub-mountain forests in north of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 19: 289-303.
21. Horvath, E., G. Szalai, M. Pul, E. Puldi and T. Janda. 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.
22. Iranmanesh, Y., S. Ali Ahmad Korori, K. Espahbodi and D. Azadfar. 2009. Comparison 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: 154-165 (In Persian).
23. Jaaska, V. 2005. Isozyme variation and phylogenetic relationships in *Vicia* subgenus Cracca (Fabcaeae). Annals of Botany, 96: 1085-1096.
24. Janda, T., G. Szalai, K. Rios-Gonzalez, O. Veisz and E. Paldi. 2002. Correlation between frost tolerance and antioxidative activities in cereals. Acta Biologica Szegediensis, 46: 67-69.
25. Jogaite, V., V. Kleizaite, A. Stapolionyte and D. Bjerketvedt. 2003. Superoxide dismutase polymorphisms in wild population of Herb Paris (*Paris quadrifolia* L., Trilliaceae). Ekologija (Vilnius), 1: 59-62.
26. Karimi, L. and D. Azadfar. 2011. Consideration and comparison of genetic diversity of English yew species (*Taxus baccata* L.) by using branch and leaf peroxidase. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18: 227-238 (In Persian).
27. Khorankeh, S. 2004. Determination of diameter growth for maple (*Acer velutinum* Boiss.) in the eastern forests of Mazandaran section 2. MSc Thesis, Mazandaran University, Natural Resources Faculty, 125 pp (In Persian).
28. Kurt, Y., N. Kaya and K. Isik. 2008. Isozyme variation in four natural populations of *Cedrus libani* A. Rich. in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32: 137-145.
29. Maddah, S.M., F. Moraghebi, S. Farhangian-Kashani and F. Afdideh. 2015. Study of physiological response and resistance of the black locust tree (*Robinia pseudoacacia* L.) air pollution in Tehran. Journal of Plant Environmental Physiology, 10: 48-56.
30. Marjamaa, K., M. Lehtonen, T. Lundel, M. Toikka, P. Saranpaa and K.V. Fagerstedt. 2003. Developmental signification and seasonal variation in beta-glycosidase and peroxidase activities in xylem of Scots pine, Norway spruce and silver birch. Tree Physiology, 23: 977-986.
31. Matinizadeh M., M. Khoshnevis, P. Salehi Shanjani, S. Ali Ahmed Korori, F. Moraghebi, M. Maghuli, M. Teimuri and M. Jebeli. 1998. Study of genetic segregation of *Juniperus polycarpos* trees of Iran using peroxidase and amylase. Pajouhesh and Sazandeghi, 38: 62-65 (In Persian).
32. Neves, V.A. 2002. Ionically bound Peroxidase from peach fruit. Brazilian Archives of Biology and Technology, 45: 7-16.
33. Parhizkar, P., S. Ali Ahmad Korori, F. Moraghebi, M. Teimouri, Y. Torabian and N. Manouchehri. 2009. Seasonal alteration of peroxidase in branch and leaves of *Eucalyptus viminalis* Labill. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 16: 368-377.
34. Rasaneh, Y., M.H. Moshtagh Kahnoee and P. Salehi. 2001. Aquantitative and qualitative study of northern forest. Iranian National Conference of Northern Forest Management and Constant Development, 55-79 pp (In Persian).
35. Reisi, S., S.G. Jalali and K. Espahbodi. 2011. Aninvestigation 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.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

36. 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 (In Persian).
37. Scandalios, J.G. 1966. Tissue-specific isozyme variations in Maize. The Journal of Heredity, 29: 281-285.
38. Shams, R., M.H. Assareh, S. Enteshari, M. Matinizadeh and A. Ghamari-Zare. 2011. Comparing the effect of chilling stress on peroxidase activity in *Eucalyptus* Seedlings. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 19: 304-313 (In Persian).
39. Shamsabadi, F., M. Matinizadeh and T. Najafi. 2013. Quantitative and qualitative changes of Peroxidase activity in *Onobrychis sativa* under drought stress conditions. Iranian Journal of Range and Desert Research, 20: 549-558 (In Persian).
40. Staszak, J., N.E. Grulke, M.J. Marrett and W. Prus Glowacki. 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.
41. Valipour Kahrood, H., S. Ali Ahmad Korori, A. Danehkar and A. Shirvani. 2007. Changes in peroxidase isozymes in Mangrove species (*Avicennia marina*) after exposure to heavy metals and oil pollutants. Iranian Journal of Biology, 20: 257-268 (In Persian).
42. Zeidler, M. 2000. Electrophoretic analysis of plant isozymes. Biologica, 38: 7-16.
43. Zolfaghari, R., S. Ali Ahmad Korori and V. Etemad. 2005. Changes in the activity of Amylase, Peroxidase and Catalase in beech (*Fagus orientalis* Lipsky) during dormancy and growing. Acta Biologica Hungarica, 56: 305-311.
44. Zolfaghari, R., S. Ali Ahmad Korori and V. Etemad. 2007. Using Peroxidase and Catalase enzymes for identification of cold resistant individuals in Iranian beech (*Fagus orientalis* Lipsky). Iranian Journal of Natural Resources, 60:67-76 (In Persian).

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]

Selecting Appropriate Tissue Sample and Optimal Maintenance Conditions for enzymatic Investigations on Velvet Maple (*Acer velutinum* Boiss.)

Majid Aldaghi[1], Kambiz Espahbodi[2], Azam Salimi[3] and Roghayeh Khaksar[4]

1- Assistant Professor, Plant Protection Department, Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Mazandaran, AREEO, Sari, IRAN, (Corresponding author: m_aldaghi@yahoo.com)
2- Associated Professor, Natural Resources Department, Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Mazandaran, AREEO, Sari, IRAN
3 and 4- Associated Professor and Graduated M.Sc., University of Kharazmi, Karaj, IRAN
Received: October 21, 2015 Accepted: November 9, 2016

Abstract

Acer velutinum Boiss. is considered as one of the most important of forest tree. Due to the abundant polymorphism and high sensitivity to environmental conditions, using the Peroxidase to study the genetic diversity is very common. The current study aimed to assess the qualitative and quantitative changes of peroxidase in different maintenance conditions of plant samples and also in different vegetative tissues of maple tree. Different tissues (one-year and two-year branches, trunk bark and leaves) were taken from four maple trees. Samples were conserved in three different status, refrigerator (+4°C), freezer (-20°C) and nitrogen liquid (-196°C) until the time of enzyme extraction. Survey of peroxidase qualitative activity showed that 11 isozyme bands were appeared on acrylamide gels in the sections of heavy- and medium-sized molecules. Maximum isozyme bands were emerged for the samples stored in refrigerator. For one-year and two-year old branches, the number of band positions for refrigerator and freezer stored samples was the same. In terms of number of band stations, samples stored in liquid nitrogen was in the next category. For leaf samples, the number of band positions for refrigerator and nitrogen conserved samples was equal and maximum, and the number of bands for freezer stored samples was in second category. The largest number of bands emerged in bark samples were related to those which conserved in refrigerator. Among the all samples stored in refrigerator, maximum quantitative and qualitative activity of peroxidase was related to the trunk bark, leaf and eventually the branches samples, respectively. So, +4°C and trunk bark are the most suitable condition and tissue, respectively, for enzymatic studies on maple.

Keywords: Maple, Conservation condition, Plant tissue, Peroxidase, Enzymatic study

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1394.3.5.2.0]