استفاده از آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز براي شناسايي پايه‌هاي مقاوم به سرما در گونه راش ايراني(*Fagus orientalis* **Lipsky**)

رقيه ذوالفقاري*[1]، سودابه علي‌احمدكروري[2] و وحيد اعتماد[3]
[1] دانشجوي دكتري جنگلداري، دانشگاه تربيت مدرس، ايران
[2] عضو هيات علمي‌موسسه تحقيقات جنگل‌ها ومراتع، ايران
[3] استاديار گروه جنلگداري و اقتصاد جنگل، دانشكده منابع طبيعي، دانشگاه تهران، ايران
(تاريخ دريافت: ۸۳/۸/۱۶، تاريخ تصويب: ۸۴/۵/۱۵)

چكيده

راش ايراني (*Fagus orientalis* Lipsky) يكي از مهم‌ترين عناصر اصلي جنگل‌هاي شمال كشور محسوب مي‌شود. اين گونه هم از نظر سطح و هم از نظر حجم درصد زيادي از جنگل‌هاي شمال ايران را به خود اختصاص داده است،از اين رو حفظ و بقاي اين گونه اهميت بسياری دارد. يكي از راه‌هاي حفظ و احياي اين گونه، شناخت پايه‌هايي است كه به تنش‌هاي مختلف محيطي از جمله سرماي ديررس و زودرس مقاوم باشند. آنزيم‌ها حساس‌ترين عامل تغييرات فيزيولوژيك، در گياهان تحت تنش‌هاي محيطي محسوب مي‌شوند. در اين پژوهش به اين منظور تغييرات فصلي كمي و كيفي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز سرشاخه‌هاي ۹۰ پايه درخت راش در هفت ماه از سال و در سه ارتفاع (۱۱۰۰، ۱۵۰۰ و ۱۹۰۰ متر از سطح دريا) اندازه‌گيري و مقايسه (آزمون دانكن) شد. تحقيقات كمي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز با استفاده از دستگاه اسپكتروفتومتر و مطالعات كيفي پراكسيداز به روش PAGE(پلي اكريل آميد ژل الكتروفورز) انجام شد. نتايج نشان داد كه فعاليت كمي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز و نيز باندهاي ايزوآنزيمي پراكسيداز در ماه‌هاي سرد بيشتر از ماه‌هاي گرم سال بود.در فروردين ماه فعاليت كمي كاتالاز در ارتفاع زياد بيشتر از ارتفاعات كم بود، اما تعداد جايگاه‌هاي ايزوآنزيمي پراكسيداز ارتفاعات كم براي مقابله با تنش سرماي ديررس بيشتر از ارتفاع زيادبود. در شهريورماه نيز ميزان كمي و تعداد جايگاه‌هاي ايزوآنزيمي به علت مقابله با سرماي زودرس در ارتفاعات زياد به طور معني‌داري بيشتر از ارتفاع كم بود. اين تحقيق بار ديگر نقش دو آنزيم پراكسيداز و كاتالاز را در فيزيولوژي تنش بخصوص پديده سرما ثابت كرد.

واژه‌هاي كليدي: پراكسيداز، كاتالاز، سرما و راش ايراني

نويسنده مسئول: تلفن: ۰۲۶۱-۲۲۲۳۰۴۴ فاكس: ۰۲۶۱-۲۲۴۹۳۱۲ E-mail: rzolfaghari@modares.ac.ir

مقدمه

راش ايرانـي (*Fagus orientalis* Lipsky) يكـي از مهم‌ترين عناصر اصلي جنگـل‌هـاي شـمال كشـور محسـوب مي‌شود. اين گونه در عرض جغرافيايي ۳۷-۳۶ درجه شـمالي و طول جغرافيايي ۵۷-۴۸ درجه شرقي يعني به طـور تقريـب از جنگـل‌هـاي آسـتارا تـا گرگـان اسـتقرار يافتـه اسـت. رويشـگاههاي طبيعـي راش از ارتفـاع ۷۰۰ تـا ۲۶۰۰ متـر از سطح دريا گسترش دارد. بنابر آمار موجود گونـه راش از نظـر سطح ۵،۱۷ درصد و از نظر حجم ۳۰ درصـد از جنگـل‌هـاي شـمال ايـران را بـه خـود اختصـاص مـي‌دهـد (۲). تـاكنون طرح هاي جنگلداري متعدد در راشسـتان هـاي ايـران انجـام شده است و بيشتر برداشت چوب صـنعتي از جنگـل بـه ايـن گونه اختصاص دارد، بنابراين حفظ و بقـاي ايـن گونـه حـائز اهميت اسـت. يكـي از راه هـاي حفـظ و احيـاي ايـن گونـه، شناخت پايه‌هايي است كه بـه تـنش هـاي مختلـف محيطـي مقاوم باشند. از مهم‌تـرين تـنش هـاي محيطـي جنگـل‌هـاي شمال، سرما بخصوص سرماي ديررس است كـه موجـب وارد آمدن خسارت به اندام هاي گياه از جمله بذرها مي‌شـود و در شـرايط حـاد حتـي موجـب از بـين رفـتن و حـذف زادآوري طبيعي آنها مي‌شود. راش از جمله گونه‌هـايي اسـت كـه بـه سرماي ديـررس بهـاره حسـاس اسـت. ايـن گونـه در دامنـه ارتفاعي وسيعي به‌صورت توده وجـود دارد، بـه همـين دليـل براي تحقيقات فيزيولوژيك بسـيار مناسـب اسـت. در چنـين شرايطي و با توجه به پيشرفت علوم زيسـتي بـويژه در عرصـه فناوري زيستي، استفاده تلفيقي از روش‌هـاي آزمايشـگاهي و صحرايي گره‌هاي بسياري را در مديريت جنگل خواهد گشود.

آنزيم‌ها كاتاليزور واكنش هاي فيزيولوژيك گياهان محسوب مـي‌شـوند. نتـايج تحقيقـات نشـان مـي دهـد كـه آنـزيم‌هـا حساس‌ترين عامل تغييـرات فيزيولوژيـك، در گياهـان تحـت تنش هاي محيطي اند (۴ ، ۱۷). بررسي آنزيم‌ها از نظر كمي و كيفي و مطالعه نحوه تغيير الگوهاي ايزوآنزيمي تحت تأثير تنش هاي مختلف از جمله بررسي هاي مهم اكوفيزيولـوژي و فيزيوژنتيـك اسـت. بررسـي كمـي و كيفـي تغييـرات فصـلي آنزيم‌ها بويژه آنزيم‌هاي حساس به تنش هاي محيطي بـراي يافتن اكوتيپ هاي مقاوم و حساس به تنش اهميت دارد. اين تغييـرات را مـي‌تـوان در انـدام هـاي مختلـف گياهـان مثـل سرشاخه، بذر، برگ و ... بررسي كرد. نتـايج تحقيقـات نشـان مي‌دهد كه پراكسيداز به تنش هاي مختلف محيطي حسـاس بوده و قادر است H_2O_2 موجود در گياه را كه اغلب در زمـان تنش افزايش مي‌يابد و به گياه آسيب مي‌رساند، تجزيـه كنـد (۱۵ ، ۱۶). آنزيم كاتالاز هم در گياهان به‌طور معمـول در پراكسي زوم ها و گلي اكسي زوم ها يافت مي‌شود و عمل آن نيز تخريب H_2O_2 ايجاد شـده در گيـاه اسـت. تفـاوت آن بـا پراكسيداز اين است كه وقتي در گياه وارد عمل مي‌شـود كـه H_2O_2 محيط زياد باشد، اما پراكسيداز درمقدار كـم H_2O_2 عمـل مـي‌كنـد(۱). درحقيقـت پراكسـيداز بـا توليـد آب و فنـل هـاي بـي‌ضـرر و كاتـالاز بـا توليـد آب و اكسـيژن در بافت هاي گيـاهي مـاده سـمي‌آب اكسـيژنه را از محـيط دور مي‌كند. عامل آب به عنوان خنك‌كننـده بافـت هـا و افـزايش اكسـيژن نيـز از طرفـي قـدرت فيزيولـوژي گيـاه را افـزايش مى دهد. در اين تحقيق سعي شد با بررسى تغييـرات فصـلي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز به واكنش گياه به دليـل تغييـر فصل و در درجه حرارت هاي محيطي مختلف پي برده شد و در نهايت الگويي براي شناسايي اكوتيپ هاي مقاوم به سرما بخصوص سرماي ديررس در گونه راش معرفي شود.

مواد و روش‌ها

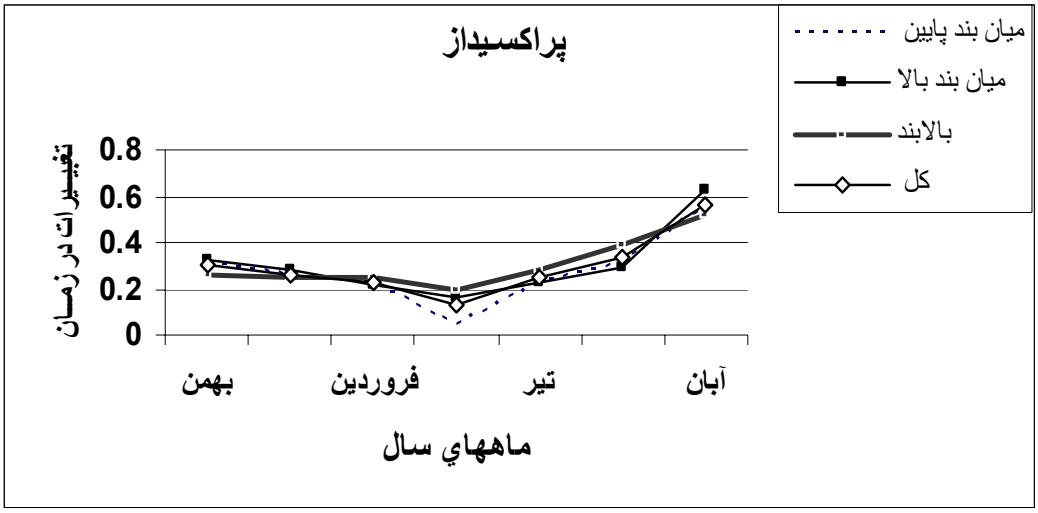
ايـن پـژوهش روي گونـه راش *Fagus orientalis* (Lipsky) در جنگل تحقيقاتي و از و در سـه ارتفـاع ۱۱۰۰، ۱۵۰۰ و ۱۹۰۰ متري انجام شد. براي بررسي تغييرات فصـلي پراكسيداز و كاتالاز، نمونه‌بـرداري از سرشـاخه‌هـاي ۳۰ پايـه درخت در يك جهت ثابـت (جنـوبي) در هفـت مـاه (بهمـن، اسفند، فروردين،خرداد،تير، شهريور و آبان) در هريك از سه ارتفاع به تفكيك انجام شد.

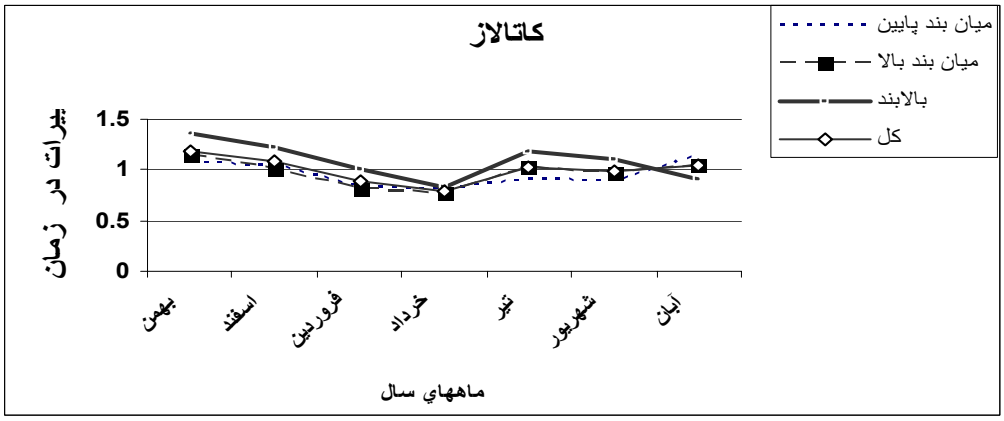
نمونه‌ها بلافاصله در دماي ۴ درجه سانتيگراد بـه آزمايشـگاه منتقل و عصاره‌گيري انجام شـدند. فعاليـت كمـي كاتـالاز و پراكسيداز و مطالعات كيفي پراكسيداز تمام نمونه‌هـا،بررسـي شد. فعاليت كمـي آنـزيم پراكسـيداز بـا اسـتفاده از دسـتگاه اسـپكتروفتومتر(Coleman model6/2) و براسـاس روش Ornstein (۱۹۶۳)، فعاليـت كمـي كاتـالاز بـا اسـتفاده از دسـتگاه اسـپكتروفتومتر مـدل Bausch&Lumb و بنـابر روش Maehly & Chance (۱۹۵۵) و فعاليـت كيفـي پراكسـيداز بـه روش الكتروفـورز بـا ژل پلـي اكريـل آميـد (PAGE) بررسي شد.

براي مقايسه فعاليت كمي پراكسيداز و كاتـالاز در مـاه‌هـا و ارتفاعـات مختلـف و نيـز در طـول سـال، از آزمـون مقايسـه ميانگين‌ها (دانكن) با حدود اعتماد ۹۵ درصد استفاده شد.

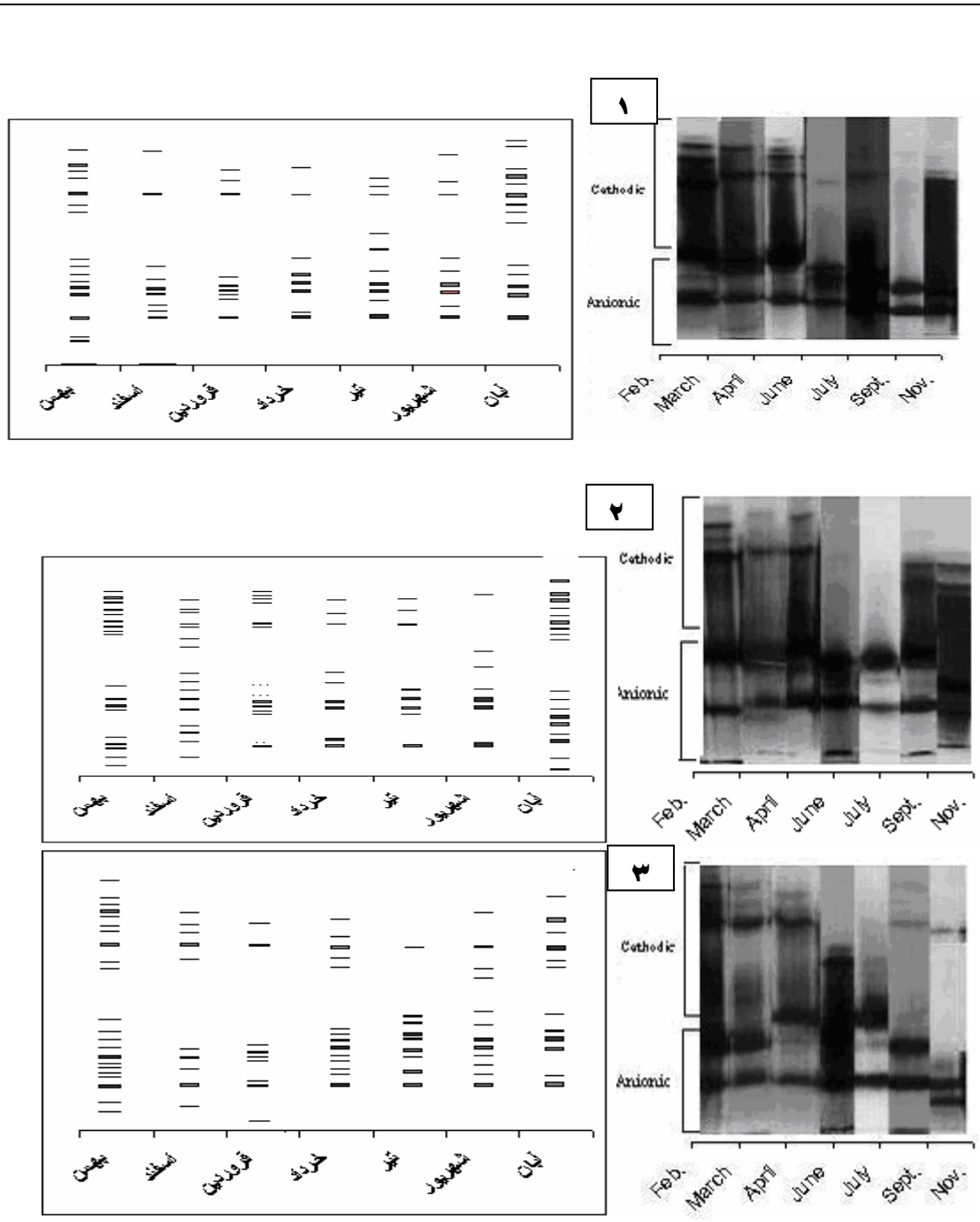
نتايج

تغييرات فصلي پراكسيداز و كاتالاز نشان داد كه فعاليت اين آنزيم‌ها در فصول پاييز و زمسـتان بيشـتر از بهـار و تابسـتان است. فعاليت كيفـي پراكسـيداز نيـز تعـداد بيشـتر بانـدهاي ايزوآنزيمي پراكسيداز بخصوص باندهاي كاتدي (سبك) را در فصـول سـرد بـيش از فصـل رويـش نشـان داده اسـت (شكل هاى ۱ و ۲).





شكل ۱- منحني تغييرات كمي‌آنزيم‌هاي كاتالاز و پراكسيداز در ماه‌ها و ارتفاعات مختلف سال



شكل ۲- زيموگرام باندهاي ايزوآنزيمي پراكسيد از در ماه‌ها و ارتفاعات مختلف
(۱- ارتفاع كم ،۲- ارتفاع مياني و ۳- ارتفاع زياد)

از طرف ديگر، فعاليت كاتالاز و پراكسيداز و تعداد باندهاي ايزوآنزيمي پراكسيداز درختان ارتفاع بالا نسبت به دو ارتفاع كمتر در اين ماه‌هاي سرد به استثناي بهمن ماه بيشتر بود (جدول ١). همچنين مقايسه ميانگين فعاليت آنزيم كاتالاز در طول سال نشان داد كه در ارتفاع زياد مقدار اين آنزيم به‌طور معني‌داري بيشتر از دو ارتفاع ديگر بود (جدول ٢). نتايج نشان داد كه فعاليت آنزيم پراكسيداز در ارتفاع زياد در بهمن‌ماه به‌طور معني‌داري كمتر از ارتفاعات كم بود، اما فعاليت كاتالاز و تعداد باندهاي كاتدي اين ارتفاع خيلي بيشتر از دو ارتفاع ديگر بود (جدول ١). با افزايش درجه حرارت در اسفندماه نسبت به بهمن فعاليت هر دو آنزيم و نيز تعداد باندهاي ايزوآنزيمي كاهش يافت، اما در اين مورد هم فعاليت كمي كاتالاز و پراكسيداز و باندهاي ايزوآنزيمي پراكسيداز در ارتفاع بالا بيشتر از ارتفاع پايين بود.

همان‌طوركه در شكل هاي ١ و ٢ مشاهده مي‌شود، روند كاهش فعاليت كمي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز و همچنين فعاليت كيفي پراكسيداز با گرم‌تر شدن هوا تا خرداد ادامه داشته و پس از آن روند صعودي دارد.

نتايج مقايسه اين آنزيم‌ها در فروردين نشان داد كه آنزيم پراكسيداز از نظر كمي در سه ارتفاع تفاوت معني‌داري نداشت، ولي تعداد باندهاي ايزوآنزيمي آن در ارتفاعات كم نسبت به ارتفاع زياد بيشتر بود. همچنين فعاليت كاتالاز در ارتفاع زياد از نظر آماري به طور قابل توجهي بيشتر از دو ارتفاع ديگر بود.

بررسی فعاليت كمي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز و نيز تعداد باندهاي ايزوآنزيمي پراكسيداز در خرداد نشان داد كه آنزيم‌ها در اين زمان كمترين مقدار را در طول سال دارند، اما از تير ماه همزمان با شروع فصل خشك در اين منطقه مقدار اين آنزيم‌ها و نيز تعداد جايگاه‌هاي ايزوآنزيمي پراكسيداز به‌طور قابل توجهي دوباره شروع به افزايش كرد و اين روند افزايشي تا آبان ماه كم و بيش ادامه داشت. نتايج فعاليت كمي و تعداد جايگاه‌هاي آنزيمي در شهريورماه نشان داد كه در ارتفاع بالا بمراتب بيشتر از ارتفاعات كم اين افزايش قابل رويت است، اما در آبان مقدار اين آنزيم‌ها در ارتفاع بالابند كمتر از دو ارتفاع ديگر بود(جدول هاى ١ و ٢).

جدول ١- مقايسه ميانگين فعاليت آنزيم پراكسيداز (جذب در دقيقه) به روش دانكن در شاخه درختان سه ارتفاع در ماه‌هاي مختلف سال

ماه / ارتفاع	بهمن	اسفند	فروردين	خرداد	تير	شهريور	آبان
١١٠٠متر	٠,٣٢(a)*	٠,٢٦(ab)	٠,٢٣(a)	٠,٠٣(a)	٠,٢٣(a)	٠,٣٢(a)	٠,٥٥(a)
١٥٠٠متر	٠,٣٢(a)	٠,٢٨(a)	٠,٢٢(a)	٠,١٦(b)	٠,٢٣(a)	٠,٣(a)	٠,٦٢(b)
١٩٠٠متر	٠,٢٦(b)	٠,٢٥(b)	٠,٢٤(a)	٠,١٩(b)	٠,٢٨(b)	٠,٣٨(b)	٠,٥٢(a)

(P<0.05)*

جدول ٢- مقايسه ميانگين فعاليت آنزيم پراكسيداز به روش دانكن در شاخه درختان سه ارتفاع در طول سال

ارتفاع	فعاليت پراكسيداز در طول سال
١١٠٠متر	٠,٢٧۴(a)
١٥٠٠متر	٠,٣٠۴(a)
١٩٠٠متر	٠,٣٠۴(a)

بحث

تغييرات خاص فنولوژي و فيزيولوژي در حد طبيعي و شرايط نامطلوب محيطي مثل دماي كم، نور زياد، خشكي و غيره مي‌تواند موجب افزايش توليد اكسيژن فعال مثل O^{-}_{2} و H_2O_2 در بافت‌هاي گياهان شود(۱۳). يك گونه درختي منطقه معتدله مثل راش در طول زندگي با تغييرات زيادي در شرايط محيطي اش مواجه است. بنابراين وجود سيستم‌هاي آنتي اكسيداتيو (آنزيم‌ها) براي سازگاري گياهان چوبي مهم است (۱۴).

فعاليت كمي آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز و فعاليت كيفي پراكسيداز در زمستان بيشتر از تابستان است كه اين نتايج مشابه نتايج تحقيقات سايِر محققان است (۶ ، ۸). از جمله اين تغييرات به‌واسطه اثر سرما بر مقدار اكسيژن فعال است. اين پديده سبب مي‌شود مقدار اكسيژن فعال در بافت‌هاي گياهي افزايش يابد. آنزيم‌هاي كاتالاز و پراكسيداز نقش مهمي در تخفيف استرس‌هاي اكسيداتيو دارند (۱۱). از آنجا كه در زمستان در ارتفاعات بالاتر شاهد دماي كمتري نسبت به ارتفاعات پايين تر هستيم، به همين دليل فعاليت آنزيم پراكسيداز و بخصوص كاتالاز كه نقش مهمي در كاهش اكسيژن‌هاي فعال دارند، در ارتفاع بالا بيشتر از ارتفاعات كم بوده و تعداد جايگاه‌هاي ايزوآنزيمي نيز بيشتر است. همان‌طور كه ذكر شد، كاتالاز زماني وارد عمل مي‌شود كه مقدار آب اكسيژنه بيشتر از حد در بافت‌ها افزايش يابد. در ارتفاعات در مقايسه با ميان‌بند و پايين‌بند تنش بيش از حد، سبب بالا رفتن آب اكسيژنه بيش از حد عمل پراكسيداز شده است. بنابراين مقدار كاتالاز براي مقابله با تنش افزايش مي‌يابد. دربهمن ماه چون كمترين ميانگين سالانه دما در طول سال در اين منطقه است و اين شرايط در ارتفاع بالا بيشتر محدوديت‌زا است، بنابراين اكسيژن فعال بيشتري كه توليد مي‌شود، آنزيم پراكسيداز به تنهايي قادر به دفع اين استرس اكسيداتيو نيست، بنابراين آنزيم كاتالاز وارد عمل مي‌شود و به همين دليل مقدار اين آنزيم به بيشترين مقدار خود در طول سال مي‌رسد و نيز در ارتفاع بالا به طور قابل توجهي بيشتر از ارتفاعات پايين است و در نتيجه گياه به پراكسيداز كمتري نسبت به ديگر ارتفاعات احتياج دارد. از بهمن تا خرداد با كاهش استرس سرما مقدار اين آنزيم‌ها نيز بتدريج كاهش مي‌يابد، زيرا دماي محيط بتدريج گرم‌تر مي‌شود، تاجايي كه در خرداد ديگر به عنوان عامل محدودكننده محسوب نمي‌شود و در نتيجه اين آنزيم‌ها كاهش مي‌يابد. تحقيقات ديگر نيز نشان داده است كه ميانگين فعاليت پراكسيداز در طول فصل رويش و ظاهر شدن برگ هاي تازه يعني در اوايل فصل بهار به طور قابل توجهي كاهش يافته بود (۷).

در فروردين هم مقدار كاتالاز در ارتفاع بالا بيشتر از ارتفاعات ديگر بود، زيرا باز هم شرايط جوي در اين ارتفاع نسبت به ارتفاعات ديگر نامساعدتر بود، اما تعداد باندهاي ايزو آنزيمي پراكسيداز بخصوص باندهاي كاتدي كه نقش مهمي در مقابله با تنش از جمله سرماي ديررس دارند، در ارتفاعات پايين بيشتر از ارتفاع بالابند است كه مي‌تواند مؤيد اين مطلب باشد كه در ارتفاعات پايين بعد از گرم شدن هوا، دوباره ممكن است درجه حرارت هوا كاهش يابد و موجب خسارت به گياه شود كه دراصطلاح به آن حادثه سرماي ديررس مي‌گويند (۱۰). بنابراين گياهان ارتفاع پايين‌تر براي مقابله با اين تنش محيطي (سرماي ديررس) آمادگي بيشتري لازم دارند و تعداد باندهاي ايزوآنزيمي بيشتري را در اين ماه نسبت به ارتفاع بالا ظاهر كردند. Kamners و همكارانش هم نيز در سال ۱۹۹۲ نقش اين باندهاي ايزوآنزيمي كاتدي را در گياه زماني كه تحت تأثير استرس‌هاي محيطي قرار مي‌گيرد، ثابت كردند.

در خرداد ماه چون شرايط جوي و رويشي براي درختان اين منطقه بسيار مناسب است، فعاليت كمي و كيفي اين آنزيم‌ها در سه ارتفاع به كمترين مقدار خود در طول سال رسيد. دوباره از تيرماه افزايش درجه حرارت و كاهش رطوبت هوا (تنش خشكي) در گياه موجب افزايش كمي و كيفي اين آنزيم‌ها شده است. در شهريور ماه گياه بايد خود را براي تنش سرماي زمستان آماده كند، مقدار اين آنزيم‌ها بيشتر افزايش يافت و افزايش فعاليت كمي و كيفي در ارتفاعات بالا بيشتر از ارتفاع پايين بود، زيرا دماي محيط در ارتفاعات بالاتر در اين ماه كمتر از ارتفاع پايين بود و

گياهان اين ارتفاعات براي مقابله با سـرماي زودرس كـه در ارتفاعات بالا بيشتر رخ مي‌دهد، به تغييرات اين آنزيم‌ها نيـاز بيشتري دارند. Anderson و همكـارانش (١٩٩٥) دريافتنـد كه ٩ باند ايزوآنزيمي پراكسيداز براي سازگاري بـه سـرما در گياه به وجود آمدند. اما در آبان چون گياهان ارتفاعات بالا در شرايط سازگاري قرار گرفتند، فعاليت آنزيمـي ارتفاعـات بـالا كمتر شد (١٨).

به‌طور خلاصه هر زمان در طول فصل و در ارتفاعات مختلف بالابند، ميان‌بند و پايين بند تنش سرما بـه صـورت زودرس، ديررس يا مطلق رخ داده است، قبل از وقوع تنش پراكسـيداز افزايش يافته و تعداد جايگاه‌هاي ايزوآنزيمي بويژه در بخـش كاتدي مشاهده مي‌شود. درختـاني كـه زودتـر ايـن پديـده را نشان بدهند، مي‌توانند به عنوان اكوتيپ هاي مقاوم به تـنش سرماي ديررس يا زودرس معرفي شوند. اما در مـورد سـرماي مطلق زمستان بيشتر آنزيم كاتالاز است كـه نقـش مهمـي‌در دفع استرس‌هاي اكسيداتيوي كاهش دماي محيط دارد.

در مجموع مي‌توان گفت كه بررسی تغييرات فصلي كمـي و كيفي آنزيم‌هاي پراكسـيداز و كاتـالاز مـي‌توانـد در انتخـاب اكوتيپ های مقاوم به تنش‌هـاي محيطـي مثـل سـرما مفيـد باشد، به اين صورت كه مـي‌تـوان از واكـنش كمـي‌و الگـوي ايزوآنزيمي گياهان در ارتفاعات مختلف كمك گرفت و در هر ارتفـاع مقـاوم‌تـرين درختـان بـه سـرماي ديـررس، سـرماي زودرس، سرماي مطلق، خشكي و... را پيدا كـرده و از تكثيـر جنسي و غير جنسي آنها در برنامه‌ريـزي احيـای جنگـل هـا استفاده كرد. برای مثال همان‌طوركـه در ايـن تحقيـق نشـان داده شـد، درختـان ارتفاعـات پـايين كـه بيشـتر در معـرض سرماي ديررس بهاره قرار دارند، در اثـر گذشـت زمـان بـراي مقابلـه بـا ايـن تـنش محيطـي، جايگـاه‌هـاي ايزوآنزيمـي پراكسيداز بيشتري نسبت بـه ديگـر ارتفاعـات ظـاهر كردنـد. مي‌توان از اين پديده كمك گرفت و در هر ارتفاع بـه صـورت جداگانه درختاني را كه بيشترين تعداد جايگاه ايزوآنزيمـي را در اين ماه نشان دادند، به عنوان اكوتيپ‌هـاي مقـاوم تـر بـه سرماي ديررس معرفي كرد. همچنين در مورد درختان ارتفاع بالاتر تعداد ايزوآنزيمي و فعاليت آنزيمي بيشتري در شـهريور مشاهده شده، زيرا در اثر گذشت زمان درختان اين ارتفاع بـه اين سرماي زودرس كه در ارتفاعات بالا بيشتر رخ مـي‌دهـد، سازگار شده‌اند و از اين الگو مي‌توان براي انتخـاب پايـه‌هـاي مقاوم‌تر به سرماي زودرس در هر ارتفاع استفاده كرد.

منابع

۱- علي‌احمدكروري، سودابه، ۱۳۷۸. مجموعه مقالات بررسي نحوه پاسخ در درختان جنگلي به تغييرات عوامل زيست محيطي، انتشارات مؤسسه تحقيقات جنگلها و مراتع (شماره ۳۰۸). ص ۱۲۰.

۲- مشتاق، محمد حسن، يدا... رسانه و پرويز صالحي، ۱۳۸۰، بررسي كمي و كيفي جنگل‌هاي شمال كشور، مجموعه مقالات همايش ملي مديريت جنگل‌هاي شمال و توسعه پايدار، سازمان جنگلها و مراتع كشور. ص ۷۹.

3- Anderson, D. Marc, K. Tottempudi Prasad & R. Cecil Stewart, 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.

4- Castillo, F.J., 1980. Extracellular Peroxidase as Marker of Stress. In: Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidase, University of Geneva, Switzerland, P. 20.

5- Chance, B., AC. Maehly, 1995. An Assay of Catalase and Peroxidase, In: S. P. Colowick and N.D. Kapland, Eds, Method in Enzymol, Acadamic Press New York, pp 764-791.

6- Citadin, I., M.C.B. Reseira, F. Augustine, F. Herter, A.D. Campos & C.A.P. Silveira, 2000. Relation of Peroxidas 6-Phosphglucinolate Dehydrogenase and Phosphoglucoisomerase with Dormancy Phase in Peach, Abstract 5th International Peach Symposium, July 8-12, Davis, California.

7- Gamble, P. E. & J. J. Burke,1984. Effects of Water stress on the Chloroplast Antioxidative System: Alterations in Glutathione Reductase Activity, Plant Physiol, 76: 615-621.

8- Janda, T., G. Szalai, K. Rios-Gonzalez, O. Veisz & E. Paldi, 2002. Correlation between Frost Tolerance and Antioxidative Activities in Cereals. Acta Biologica Szegediensis, 46(3/4): 67-69.

9- Korori, S. A. A., H. Pichorner & R. Ebermann, 1992. Seasonal Alteration of Plant Peroxidase Isoenzyme Pattern in *Larix deciduas*, Phyton, 32: 307-313.

10- Lachaud, S. and C. Fazilleau, 1987. Cambial Dormancy and Reactivation in Beech. Bulletin de societe Botanique de France, Actualites Botaniques ,134 (3-4): 7-18.

11- Omran, G. Reff, 1980. Peroxide levels and the Activities of Catalase, Peroxidase and Indoleacetic acid Oxidase During and After Chilling Cucumber Seedlings, Plant Physiology, 65: 407 – 408.

12- Polle, A. & V. Glavace, 1993. Seasonal Changes in the Axial Distribution of Peroxidase Activity in Xylem sap of Beech (*Fagus sylvatica* L.) trees, Tree Physiology, 13: 409-413.

13- Polle, A. & H. Rennenberg, 1993. Significance of Antioxidants in Plant Adaptation to Environmental Stress, In: L. Fowden, F. T. Mansfield, and J. Stoddard, eds., Plant Adaptation to Environmental Stress, P. 263-273, Chapman & Hall, London.

14- Polle, A. and H. Rennenberg, 1994. Photooxidative Stress in Trees. In: C. Foyer and P. Mullineaux, eds., Photooxidative Stresses in Plants:Causes and Amelioration, P. 199-218, CRC Press, Inc., Boca Raton.

15- Sagisaka, S., 1985. Injuries of Cold Acclimatized Polar twigs Resulting from Enzyme Inactivation and Substrate During Frozen and Ambient for Along Period, Plant Cell Physiology, 28: 1135-1145.

16- Saho, A. C. & D. Mishra, 1987. Changes in Some Enzyme Activities During Exercised Rice Leaf Senescence Under NaCl Stress, Biochem Physical Pflanz, 182: 501-505.

17- Siegel, S. M. & B. Z. Siegel, 1986. Peroxidase Activity and Strees: A Complex Relationship, In: H. Grepping et al. Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidase, University of Geneva, 427-432.

18- Szecsko, V., K. Hrotko, & E. Stefanovits-Banyai, 2002. Seasonal Variability in Phenol Content, Peroxidase and Polyphenoloxidase Enzyme Activity During the Dormant season in Plum rootstocks. Acta Biologica Szegediensis, 46(3/4): 211-2

Using Peroxidase and Catalase enzymes for identification of cold resistant individuals in Iranian Beech (*Fagus orientalis* Lipsky)

R Zolfaghari[1], S. A. A. Korori[2] and V. Etemad[3]
[1] Ph.D Sudent, Forestry, Uiversity of Tarbiat Modares, I.R. Iran
[2] Staff Member, Forest and Rangelands Research Institut I.R. Iran
[3] Assistant Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran
(Received 6 November 2004, Accepted 6 August 2005)

Abstract

Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) is one of the most important species in northern forests of Iran. This species is a main constituent of northern forests of Iran in terms of both the volume and coverage, hence the survival and protection of this plant is highly important. Therefore, a way to protect and revive this plant is to find the types that are resistant to various environmental stresses, such as late and early cold. Enzymes are the most sensitive causes of physiologic changes in the plants undergoing environmental stresses. In this research, the enzyme content of branch tips of 90 trees in (1,100 m, 1,500 m and 1,900 m) elevations was collected in order to study seasonal qualitative and quantitative changes in proxidase and catalase enzymes within seven months and the results were compared (Duncan test). Proxidase and catalase enzymes were studied quantitatively by spectrophotometry. Furthermore, the proxidase collected underwent qualitative tests based on the PAGE (polyacrylamid gel electrophoresis) method. Results showed that proxidase and catalase are more active and more isoenzyme bands are observed in the cold months as compared to warmer months. In Farvardin (March 21-April 20), catalase is quantitatively more active in higher elevations relative to lower elevations however the number of isoenzyme bands of proxidase in the trees located in lower elevations was more to combat the stress caused by late cold. In Shahrivar (August 23-September 23), the number of isoenzyme bands significantly increases in higher elevation as a means to resist early cold. This research again emphasized the role of proxidase and catalase in the face of physiological stresses, especially decrease of temperature.

Key words: Peroxidase, Catalase, Cold, *Fagus orientalis*

* Corresponding author: Tel: 0261-2223044 , Fax: 0261-2249312 E-mail: rzolfaghari@modares.ac.ir