DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2012.6737

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۹، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۳۱۳-۳۰٤ (۱۳۹۰)

تأثیر تنش سرما بر فعالیت پراکسیداز در نهال‌های اکالیپتوس

زینب شمس[1*]، محمدحسن عصاره[2]، شکوفه انتشاری[3]، محمد متینی‌زاده[4] و عباس قمری‌زارع[5]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس‌ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی، تهران
پست الکترونیک: amsham@yahoo.com
۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
۳- استادیار، دانشگاه پیام نور، اصفهان
٤- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
۵- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۳/۱٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۹/۲۱

چکیده

تنش سرما یک فاکتور عمده در پراکنش، رشد، و بقاء گیاهان چوبی است. به‌دلیل اهمیت اکالیپتوس به‌عنوان گونه سریع‌الرشد در جنگل‌کاری، در این تحقیق تعیین تفاوت بین گونه‌های *E. saligna*، *E. rubida* و *E. camaldulensis* از نظر فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌عنوان نشانگر بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت و میزان فعالیت آن در برگ‌های تحت تنش سرما تعیین شد. تیمارهای دمایی ۵°C و ۲۰°c- و شرایط گلخانه (شاهد) با دمای ۲٤°C مقایسه شد. مطالعات کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز توسط روش‌های الکتروفورز و اسپکتروفتومتری صورت گرفت. نتایج حاکی از تأثیر تنش سرما بر تغییر فعالیت پراکسیداز در برگ‌های اکالیپتوس و در مقایسه با شاهد بود و سرما باعث افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌ها گردید. همچنین فعالیت این آنزیم در مراحل مختلف به فاکتورهای متعددی ازجمله گونه گیاهی، مقاومت یا حساسیت به تنش، شدت تنش، فواصل زمانی اعمال تنش وابستگی نشان داد. با توجه به مقایسه فعالیت آنزیم‌ها و شناسایی عوامل مؤثر در مقاومت گیاه به سرمازدگی، می‌توان گونه‌های مقاوم‌تر به سرما را شناسایی کرد.

واژه‌های کلیدی: تنش سرما، اکالیپتوس، گونه‌ها، پراکسیداز.

مقدمه

اکالیپتوس گونه بومی قاره استرالیا بوده و به صورت عمده به‌عنوان منبع تولید چوب کاغذسازی، هیزمی، ذغال چوب، تیرهای تونلی، و اسانس‌های روغنی مورد کشت قرار می‌گیرد. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور از سال ۱۳٤۷ فعالیت دامنه‌داری را در زمینه تحقیق سازگاری گونه‌های مختلف اکالیپتوس در نقاط مختلف ایران (خوزستان، فارس، کرمانشاه، گلستان، گیلان، لرستان و مازندران) آغاز کرده است. در این برنامه مطالعات وسیعی در مورد شرایط اقلیمی و نوع خاک مناطق مختلف کشور صورت گرفت. با توجه به مسئله سرما و خشکی که هر ساله مشکلی جدی برای گونه‌های گیاهی کشورمان است؛

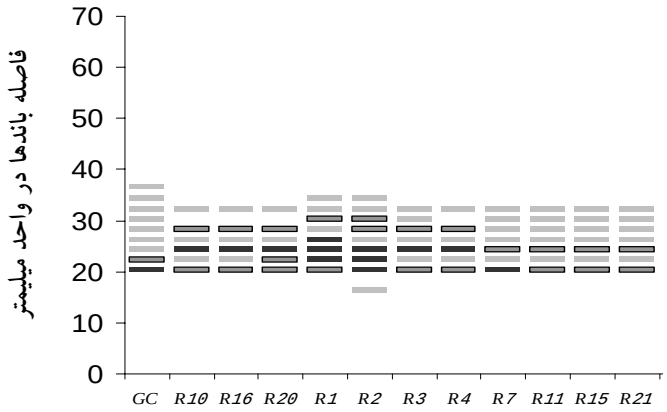
استفاده از جنس اکالیپتوس با توجه به تنوع فراوان منابع ژنتیکی و مقاومت نسبی در برابر گرما، شوری و خشکی از یک طرف و تولید سریع و مطلوب چوب در دوره کوتاه مدت سه تا پنج‌ساله از طرف دیگر، بهترین گزینه برای کشت به صورت وسیع در اراضی کم‌بازده، به‌ویژه با استفاده از هرزآب و فاضلاب است. تنش سرما یا سرمازدگی، موجب آسیب‌دیدگی اندام‌های حساس گیاه در اثر کاهش ناگهانی دما در طول فصل رویش می‌شود که می‌تواند در دماهای بالاتر از صفر (۵ تا۰) اتفاق بیفتد. در این دامنه دمایی، هسته یخی در سلول تشکیل نمی‌شود (Patterson *et al.*, 1995). مکانیسم‌های حفاظتی در گیاه به دو دسته آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم شده و باعث خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها و افزایش مقاومت در شرایط تنش می‌گردد (Mittler, 2002). آنزیم‌ها حساس‌ترین عامل تغییرات فیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش‌های محیطی محسوب می‌شوند (Korori, *et al.*, 1992, Parhizghar, *et al.*, 2002 Schittenhelm *et al.*, 2005, Chen *et al.*, 2006). آنزیم پراکسیداز به‌عنوان نشانگر برای انواع مقاومت‌ها شناخته شده و حتی در شناسایی تنوع ژنتیکی در گیاهان مورد توجه می‌باشد (Shabannejad, *et al.*, 2009). آنزیم پراکسیداز به شماره اندکس (EC1.11.1.X) و از گروه آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز است که قادر به تجزیه ماده سمی آب‌اکسیژنه در فرایندهای مختلف سلولی است؛ حداکثر فعالیت این آنزیم در فصول سرد سال گزارش شده‌است (Karrori, 1992). افزایش فعالیت پراکسیداز رابطه نزدیکی با مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی دارد (Koca *et al.*, 2007). تغییرات دمایی بر الگو و فعالیت ایزوآنزیم‌ها مؤثر است و اندام‌های مختلف گیاهی الگوی آنزیمی ثابتی را معرفی نمی‌کنند. هدف از این تحقیق مقایسه کیفی آنزیم پراکسیداز در گونه‌های اکالیپتوس، و تغییر فعالیت آن‌ها در طی تیمار سرمای اعمال شده‌است. شناخت دقیق‌تر مکانیسم‌های سازشی و دفاعی گیاه، گامی نو در گسترش و کشت گونه‌های مقاوم به سرمای اکالیپتوس در کشورمان است.

مواد و روشها

پژوهش مورد نظر در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور واقع در کیلومتر ۱۵ جاده تهران- کرج انجام شد. به‌منظور مقایسه پاسخ‌های آنزیمی گونه‌های اکالیپتوس به تنش سرما، از نهال‌هایی با دو دوره رویشی مختلف و در فواصل زمانی اواخر خرداد و اواسط آبان سال ۱۳۸۸ استفاده شد؛ در مرحله نخست آزمایش بذرهای سه گونه اکالیپتوس به نام‌های *E. saligna*، *E. rubida* و *E. camaldulensis* در دی‌ماه، سال ۸۷ در گلدان کشت داده شد و بعد از گذشت ٦ ماه و در اواخر خرداد در معرض تنش سرما قرار گرفت. گونه‌ها در دو شرایط دمایی گلخانه (G= ۲٤°C) و سردخانه (R= ۵°C) قرار داده شد. نمونه‌گیری از برگ‌های گیاه از ساعات اولیه تنش سرما و بعد از گذشت ۲، ٤ و ۸ ساعت آغاز و در روزهای ۲، ۳، ٤، ۷، ۱۱، ۱۵ و ۲۱ ادامه یافت. نمونه‌گیری از شاهد تنها در روز اول انجام شد. مرحله دوم آزمایش در اواسط مهر انجام شد و نهال‌های یکساله دو گونه *E. rubida* و *E. saligna* مورد آزمایش قرار گرفت. تیمارهای دمایی اعمال شده، سردخانه (R، ۵°C)، گلخانه (G= ۲٤°C)، و دمای (F = -۲۰°C) بود. گیاه به مدت ۸۰ روز در دمای ۵ درجه نگهداری شد؛ نمونه‌گیری در روزهای ۱، ۲، ۳، ۷، ١٤، ۲۱، ۳۵، ٤۲، ۸۰ و ۸۲ صورت گرفت و نمونه‌گیری از شاهد در روزهای ۱ و ۸۲ انجام

شد. اعمال تیمار سرما تا اواسط زمستان ادامه یافت و به‌منظور تأثیر شدت سرما، گلدان‌ها به مدت ۲ روز که متناسب با زنده‌مانی گیاه بود از دمای ۵ درجه به دمای ۲۰- منتقل شد. نمونه‌گیری در این دما از ساعات ۲، ٤، ٦ و بعد از ۱ روز انجام گردید.

یک گرم از نمونه‌های برگی خرد شده با ۳ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری با pH=۷/۵ مخلوط و به مدت ٤۸ ساعت در یخچال نگهداری شد (Ebermann & Stich, 1982). از محلول رویی نمونه‌های سانتریفوژ شده برای سنجش کیفی با روش الکتروفورز و ژل پلی‌آکریل‌آمید (Ebermann & Stich, 1982) و برای سنجش کمی از روش اسپکتروفتومتری (Chance & Maehly, 1955) استفاده گردید. عکس و زیموگرام از ژل تهیه شد؛ و نام‌گذاری باندها با تعیین فاصله از نقطه شروع حرکت آنزیم و به واحد میلیمتر تعیین شد (که در نتایج و بحث از ذکر واحد صرف‌نظر شده است). تحلیل الگوهای آنزیمی براساس فعالیت و ظهور باندها انجام گردید.



شکل ۱- تغییرات کیفی پراکسیداز در *E. rubida*

(شاهد=GC)، (R_{10} ، R_{16} و R_{20} ۲، ٤ و ۸ ساعت) و(R_1، R_2 ... R_{21} ۱، ۲ ... ۲۱ روز) پس از تیماردهی در دمای ۵ درجه

نتایج

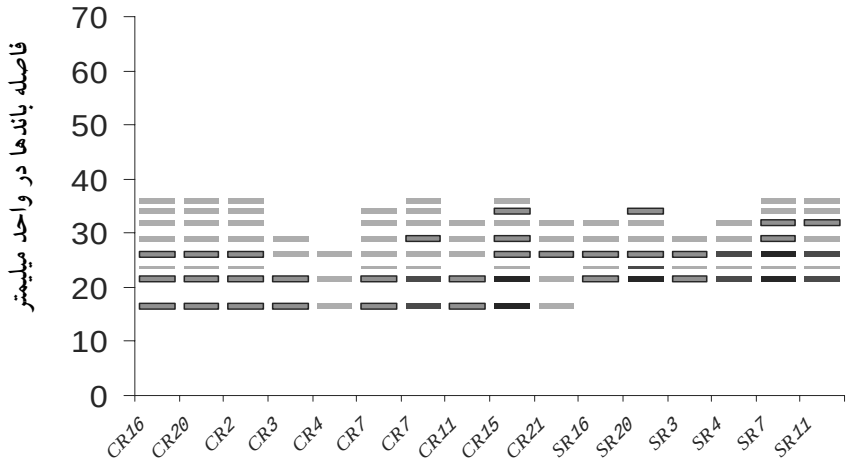
بررسی کیفی آنزیم پراکسیداز در *E. rubida* و در مرحله نخست آزمایش:

در مقایسه کیفی آنزیم پراکسیداز از نهال‌های *E. rubida* و با توجه به شکل (۱)، در ساعات ۲، ٤ و ۸ و در باند ۲٤ فعالیت بالای ایزوآنزیم‌ها در مقایسه با شاهد دیده شد و در روز دوم، باند جدید ۱۷ ظاهر شد. در روز سوم و چهارم باند ۲٤ فعال باقی‌مانده و در روز ۷ فعالیت آنزیم‌ها در باند ۲۰ آشکار شد. در روزهای ۱۱، ۱۵ و ۲۱ تغییری در الگوی آنزیم‌ها مشاهده نشد.

نتایج بررسی کیفی پراکسیداز در *E. camaldulensis* و *E. saligna*

مطابق شکل ۲ در مقایسه الگوی ایزوآنزیم‌ها در *E. camaldulensis* و *E. saligna* مشاهده شد؛ که *E. camaldulensis* در روز هفتم (CR7)، در باندهای

۱۷ و ۲۱ فعالیت بالای ایزوآنزیم‌ها به نسبت روزهای قبل مشاهده شد. در *E. saligna* پس از ۸ ساعت (SR20)، فعالیت بالای آنزیمی در باندهای ۲۱ و ۲۳ مشاهده شد؛ و ایزوآنزیم جدیدی در موقعیت ۳۵ ظاهر شد. فعالیت بالای آنزیمی در روزهای ۷ و ۱۱ ادامه یافت.

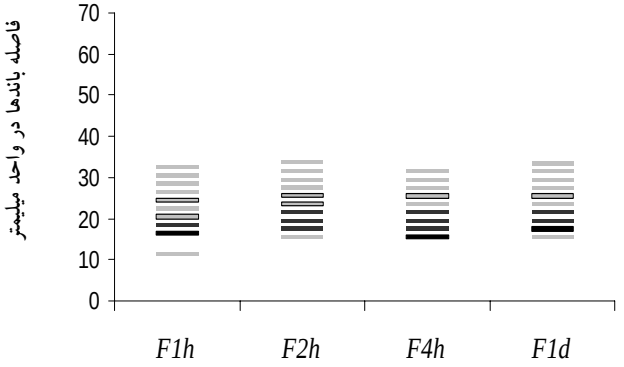


شکل ۲- تغییرات کیفی ایزوآنزیم‌های پراکسیداز در *E. camaldulensis*

(CR_{16} و CR_{20}: ٤ و ۸ ساعت و CR_1، CR_2 ... CR_{21}: ۱، ۲ ... ۲۱ روز پس از تیماردهی در ۵ درجه) و *E. saligna* (SR_{16} و SR_{20}: ٤ و ۸ ساعت و SR_3، SR_4 ... SR_{11}: ۳، ٤ ... ۱۱ روز پس از تیماردهی در ۵ درجه)

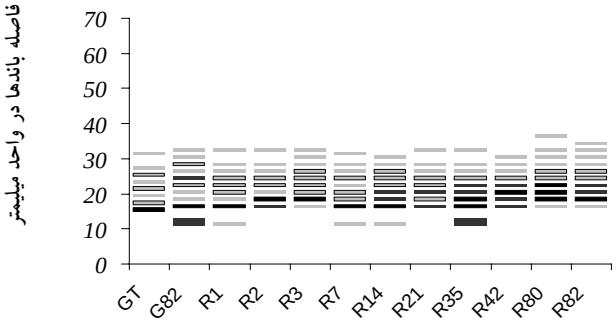
تغییرات کیفی آنزیم پراکسیداز *E. saligna* در دمای ۵ و ۲۰- درجه سانتیگراد

در بررسی نهال‌های یکساله *E. saligna* و با توجه به شکل (۳- الف) مشاهده شد که پس از یک روز تیمار سرما (R1) و در مقایسه با شاهد (GT)، باند ۱۱ ظاهر شد. پس از تیمار دمایی سه روزه (R3)، ایزوآنزیم جدیدی در موقعیت ۳۰ ظاهر شد. فعالیت بالای آنزیمی در روز ۳۵ و در مقایسه با روزهای قبل مشاهده شد. همانطور که در شکل مشخص است فعالیت ایزوآنزیم‌ها در روزهای ۸۲ و ۸۰ ادامه یافت. با توجه به شکل ۳ (ب)، بعد از گذشت یک ساعت تیمار دمایی ۲۰- درجه (F1h) و در مقایسه با روز قبل (R80)، باند ۱۱ دوباره ظاهر شد؛ پس از گذشت ۲ ساعت (F2h)، باند ١٤ که اولین موقعیت آنزیمی بود تشکیل شد. پس از سرمادهی ٤ ساعته (F4h)، فعالیت بالای آنزیمی در باند ١٤ مشاهده شد. بعد از تیمار یک روزه (F1d)، باند ۳۲ ظاهر و موقعیت ١٤ با کاهش فعالیت روبرو شد. سایر الگوهای آنزیمی مشابه (F4h) بود.



شکل ۳- (الف): تغییرات کیفی پراکسیداز در نهال‌های یکساله *E. saligna* در دمای ۵ درجه

(شاهد صفر و ۸۲ روزه در گلخانه (GT و G_{82})، و R_1، R_2 ... R_{82} ۱، ۲ ... ۸۲ روز پس از تیماردهی در دمای ۵ درجه)؛

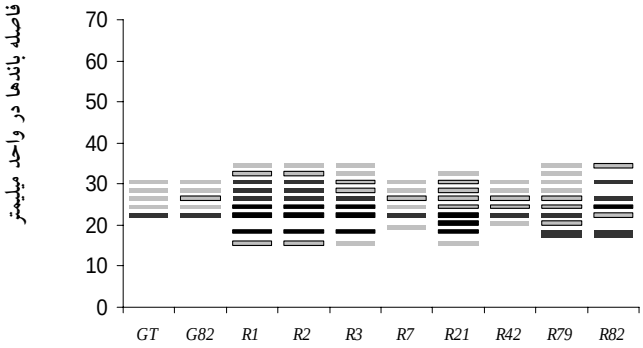


(ب): تغییرات کیفی پراکسیداز در نهال‌های یکساله *E. saligna* در دمای ۲۰- درجه

(F_{1h}، F_{2h} ... F_{4h} ۱، ۲ ... ٤ ساعت، F1d یک روز).

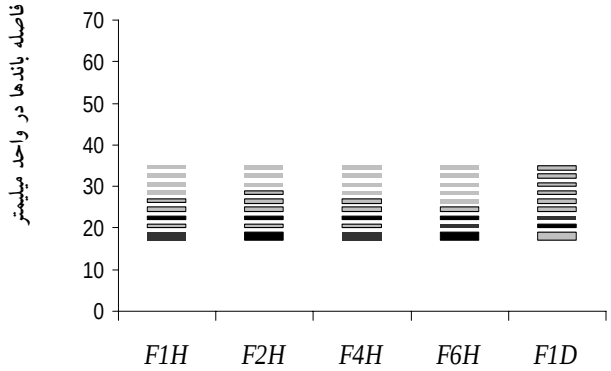
تغییرات کیفی آنزیمی پراکسیداز *E. rubida* در دمای ۵ و ۲۰- درجه سانتیگراد

با توجه به شکل ٤ (الف)، پس از اعمال سرمای یک روزه (R1) تعداد ایزوآنزیم‌ها در مقایسه با شاهد افزایش یافت. باندهای ۱۷، ۱۹، ۳۲ و ۳٤ ظاهر شد؛ در روزهای ٤۲ و ۷، افت فعالیت آنزیمی مشاهده شد. پس از ۷۹ روز تیمار سرما (R79)، باند ۱۵ حذف و باندهای ۱۷ و ۳٤ ظاهر شد. پس از سرمادهی ۸۲ روزه (R82) باندهای ۲۰ و ۲۸ حذف شد. در دمای ۲۰- درجه و با توجه به شکل ٤ (ب) مشاهده شد که پس از یک ساعت تیمار دمایی اعمال شده (F1H)، الگوی ایزوآنزیم‌ها یکنواخت و پس از گذشت ٤ ساعت (F4H)، تعداد ایزوآنزیم‌ها و الگوی آنزیمی مشابه ساعت اول ظاهر شد.



شکل ٤- (الف): نمودار تغییرات کیفی پراکسیداز در نهال‌های یکساله *E. rubida* در ۵ درجه

(شاهد و ۸۲ روزه در گلخانه GT و G_{82})، و (R_1، R_2 ... R_{82} ۱، ۲ ... ۸۲ روز) پس از تیماردهی؛

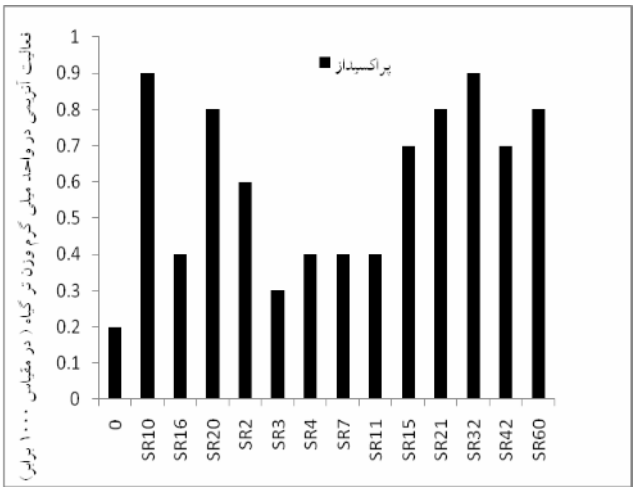


شکل٤- (ب): تغییرات کیفی پراکسیداز در نهال‌های یکساله *E. rubida* در ۲۰- درجه

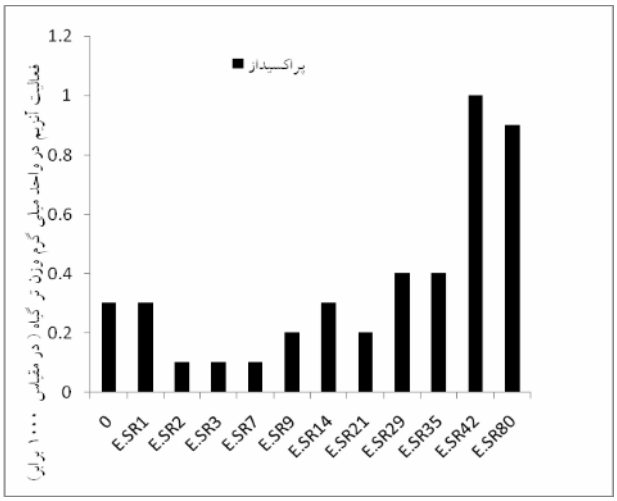
(F_{1h}، F_{2h} ... F_{4h} ۱، ۲ ... ٤، ٦ ساعت) و بعد از ۱ روز تیمار سرما

تغییرات کمی آنزیم پراکسیداز در دو مرحله آزمایش و در *E. saligna*

با توجه به شکل ۵ فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در *E. saligna*، طی دو دوره رویشی متفاوت بود. در شکل ۵ (الف)، روند افزایشی آنزیم از روز دوم (R2) آغاز و تا روز ۱٤ ادامه یافت؛ فعالیت بالاتر آنزیم در روز ٤۲ دیده شد. در شکل ۵ (ب) فعالیت بالاتر آنزیم در روز ۳۲ مشاهده شد.



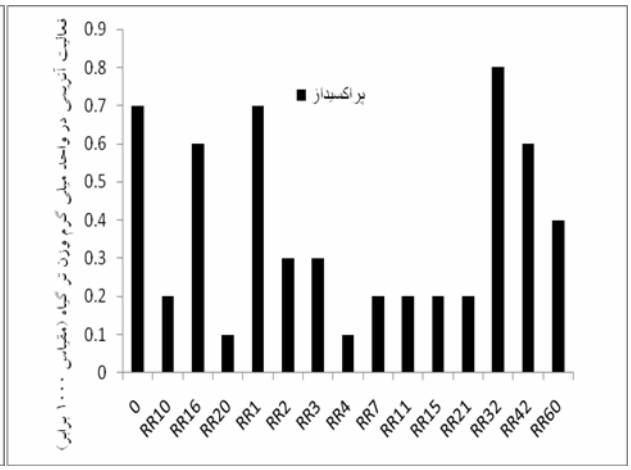
(الف)

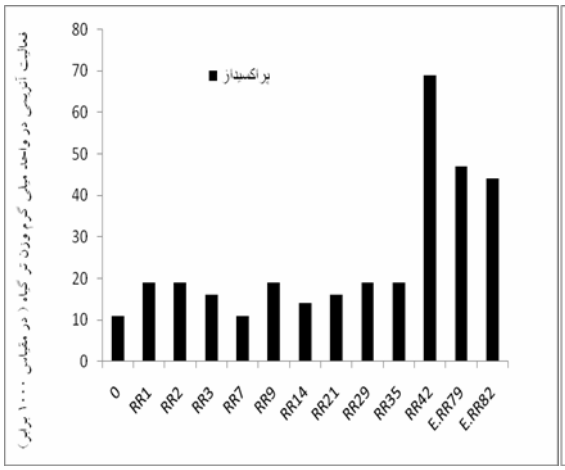


(ب)

شکل ۵- تغییرات کمی آنزیم پراکسیداز در *E. saligna* و در دمای ۵ درجه

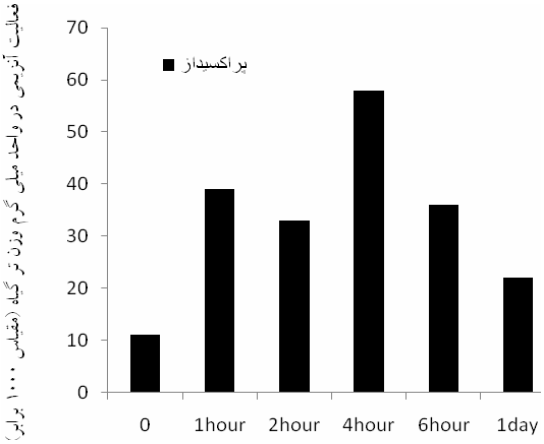
(الف: نهال‌های یکساله، ب: نهال‌های ٦ ماهه)



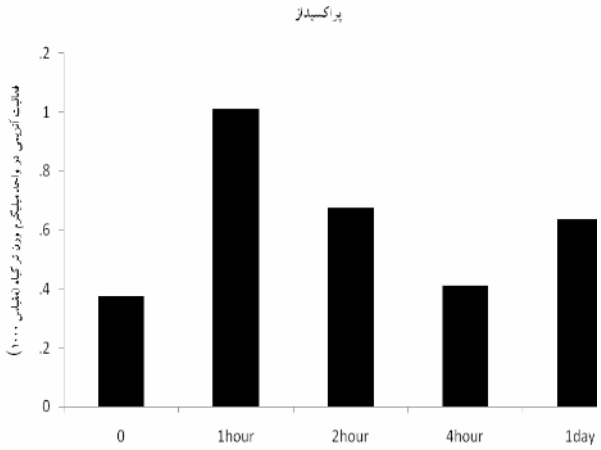


شکل ٦- تغییرات کمی پراکسیداز در *E. rubida* و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد

(الف: نهال‌های یکساله، ب: نهال‌های ٦ ماهه)



(ب) نهال‌های ٦ ماهه



(الف) نهال‌های یکساله

شکل ۷- (الف): تغییرات کمی پراکسیداز در *E. rubida* و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد؛
ب: تغییرات کمی پراکسیداز در *E. saligna* و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد

تغییرات کمی آنزیم پراکسیداز در دو مرحله آزمایش و در *E. rubida*

با توجه به شکل ٦ در مقایسه فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در *E. rubida* الگوی آنزیمی متفاوت در دو دوره رویشی مشاهده شد. در شکل ٦ (الف) افت فعالیت از روز دوم آغاز و تا روز ۲۱ ادامه داشت. در روز ۳۲ فعالیت افزایش و روند کاهشی در روزهای ٤۲ و ٦۰ دیده شد. در شکل ٦ (ب) نوسانات دمایی از روز اول (R1) آغاز و تا روز ۳۵ ادامه داشت. افزایش فعالیت در روز ٤۲ به بالاترین حد رسید.

افزایش فعالیت در روز اول (R1) در مقایسه با شاهد دیده شده و از روز ۱۱ تا ۳۲ روند افزایشی در فعالیت آنزیم‌ها ادامه یافت. در شکل ۷ (الف)، فعالیت آنزیم پراکسیداز در *E. rubida* و بعد از ٤ ساعت (4h) به بالاترین حد خود رسید، و در *E. saligna* بعد از یک ساعت دیده شد.

بحث

تحقیقات نشان داده است که در بررسی کیفی آنزیم پراکسیداز، ایزوآنزیم‌های متعددی دیده می‌شود که محل قرارگیری و تعداد آنها مشخص‌کننده ژنتیک و حتی زیرگونه‌ها می‌باشد (Parhizghar, 2002) پراکسیداز نقش مهمی در پلی‌مریزاسیون‌های اکسیداتیو گیاهان ایفاء می‌کند و به‌عنوان شاخص تنش شناخته می‌شود. از وظایف مهم دیگر پراکسیداز، انعکاس پاسخ متابولیک گیاه به اغلب عوامل تنش‌زاست (Shirvani *et all*, 1384). در نتایج بدست‌آمده از مقایسه کیفی پراکسیداز در *E. camaldulensis*، *E. rubida* و *E. saligna* و در شرایط دمایی ۵ درجه، الگوی آنزیمی متفاوتی در سه گونه مشاهده شد. مقایسه کیفی و کمی آنزیم‌ها در ساعات اولیه اعمال تنش و اعمال طولانی مدت تنش سرما در گیاهان به مدت ۸۰ روز، که به بررسی تغییرات الگوی آنزیم‌ها می‌پرداخت از نقاط مثبت تحقیق بوده است. در مرحله

نخست اعمال تنش در دمای ۵ درجه و در *E. rubida*، افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌ها در روز دوم سرمادهی و در باندهای ۲۰، ۲۲، ۲٤ مشاهده شد. اوج فعالیت در *E. saligna* در روز هفتم و در باندهای ۲۲ و ۲۵ و در *E. camaldulensis* در روز ۱۵ و در باندهای ۱۷ و ۲۱ دیده شد. تغییرات فصلی نیز بر فعالیت پراکسیداز مؤثر بوده و حداکثر فعالیت این آنزیم در فصول سرد سال در *Populus euramericana* و *Fagus orientalis* گزارش شده است (Bogdanovi *et al*., 2007, Zolfaghari *et al*., 2005, Monerri & Guardinola, 2001). نتایج آزمایش نشان داد که در گونه‌های اکالیپتوس افزایش باندها و یا به بیان دیگر افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌ها مؤید مقاومت گیاه به تنش بوده و آنزیم پراکسیداز به‌عنوان شناساگر مقاومت گیاه در شرایط تنش بود. این یافته‌ها با نظریات (Cho & Park, 2000, Morsy *et al*., 2005; Barsa, 2001; Oidaira *et al*., 2000) همخوانی دارد.

تحقیقات نشان داده که تغییرات فعالیت پراکسیداز در گیاهان مقاوم نسبت به گیاهان حساس شدیدتر و سریع‌تر است (Moreschbacher, 1992). به‌منظور شناسایی گونه‌های مقاوم، نیازمند بررسی تعداد گونه‌های بیشتر و مشخص کردن الگوی ثابت برای تشخیص پایه‌های مقاوم و حساس هستیم. شناسایی ایزوآنزیم‌های مختلف پراکسیداز که توسط تنش سرما فعال شده و درگیر در پاسخ فیزیولوژیکی به تنش سرما هستند؛ ما را در بهبود مقاومت به سرما در گونه‌های اکالیپتوس یاری می‌رساند. نتایج آزمایش تأییدی بر نظریات Mittler, 2002, Rahnama & Ebrahimzadeh, 2005, Azevedo Neto *et al*., 2006, Koca *et al*., 2007 بود. در مرحله دوم آزمایش با طولانی‌تر کردن زمان سرمادهی و همچنین افزایش شدت سرما، پاسخ آنزیم پراکسیداز در دو گونه مورد بررسی قرار گرفت.

در بررسی تغییرات کیفی پراکسیداز در گونه‌های یکساله دیده شد که با گذشت زمان در دمای ۵ درجه، فعالیت ایزوآنزیم‌ها تغییر کرد؛ در *E. saligna* پس از یک روز تیمار سرما تعداد باندها به ۹ رسید و ایزوآنزیم جدیدی در موقعیت ۱۱ ظاهر شد که در نمونه شاهد دیده نشد؛ اوج فعالیت آنزیمی در روز ۳۵ بوده و باند ۱۱ با فعالیت بالا نسبت به روزهای قبل ظاهر شد. با آزمایش و انتقال گونه‌ها از دمای ۵ به ۲۰- دیده شد که پس از یک ساعت تیمار سرما باند ۱۱ دوباره ظاهر شد.

در *E. rubida* افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌ها در روز اول و دوم مشاهده شد. با ادامه تیمار در روز هفتم افت فعالیت مشاهده گردید و در روز ۲۱ این کاهش جبران شد. در روز ٤۲ کاهش فعالیت دیده شده و در روزهای ۷۹ و ۸۰ افت فعالیت جبران شده و افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌ها مشاهده شد. در دمای ۲۰- درجه نیز فعالیت بالای آنزیمی حفظ شده و حتی بعد از گذشت ۲٤ ساعت نیز با فعالیت بالا ظاهر شدند. در بررسی فعالیت‌های کمی آنزیم‌ها، تفاوت‌هایی در هر گونه و در یک گونه طی دو نسل دیده شد. در تحقیق حاضر با توجه به بررسی پاسخ‌های آنزیمی و خصوصیات ظاهری گیاه در طول تیمار سرما مشاهده شد که *E. rubida* دارای مقاومت بالاتر نسبت به دو گونه دیگر بود و *E. saligna* و *E. camaldulensis* دارای شرایط تقریبا مشابهی بودند. به‌منظور بررسی جامع‌تر مکانیسم‌های آنزیمی در گونه‌های اکالیپتوس، تحقیق در اندام‌های دیگر ازجمله ریشه، ساقه و جوانه‌ها ضروری بوده و بررسی آنزیم‌های دیگر ازجمله کاتالاز و سوپراکسیددسموتاز لازم می‌باشد.

سپاسگزاری

به این وسیله از مهندس آناهیتا شـریعت، دکتـر بهـاره کاشفی و مهندس طاهره علـی‌زاده کـه در تنظـیم مقالـه و مراحل آزمایش مرا یاری رساندند تشکر می‌کنم.

منابع مورد استفاده

– Iranmanesh, Y., Ali Ahmad Kororri, S., Espahbodi, K. and D. Azadfar, 2009. Comparision of qualitative and quantitative activities of peroxidase in different organs of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research, 17: 155-165.
– Shabannejad-Mamaghani, M., Assareh, M.H., Omidi, M., Matinizadeh, M., Forootan, M., Ghamarizare, A., Shahrzad, Sh., and Jebelli, M. 2009. Identifiable variation using peroxidase and microsattelite markers in *Eucalyptus microtheca* F. Muell. Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research, 17: 195-208.
– Parhizgar, P., Ali Ahmad Kororri, S., Moraghebi, F., and A. Adeli, 1381. Peroxidase enzyme for find persistence species, Pajouhesh va Sazandegi, 56:44-47.
– Shirvani, A., Kororri, S., Sobhani, H., and Marvi, M., 2005. Evalution of forest ecosystem by means of soil enzyme studies with usage of *Ulmus glabra* as an bioindicator. Pajouhesh and Sazandegi, 66: 96-103.
– Azvedo Neto, A. D., Prico, J.T., Eneas-Filho, J., Baraga de Abreu, C.E., and Gomes-Filho, E., 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt- sensitive maize genotypes. Environ. EXP. Bot., 56: 235-241.
– Barsa, A.S., 2001. Crop responses and adaptions to temperature stress. In: T.K., Prasad (Ed). Mechanisms of Chilling Injury and Tolerance. Food Products Press. New York, pp: 1-34.
– Bogdanovic, J., Milosavic N., Prodanvic R., Ducic T. and Radotic K., 2007. Variability of antioxidant enzyme activity and isoenzyme profile in needles of Serbian spruce (*Picea omrika* (Pance) Purkinye). Biochemical Systematics and Ecology, 35: 263-273.
– Chance, B. and Maehly, A.C., 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods Enzymol., 2:764-817.
– Chen, Y. and Zhang, M., 2005. The relation between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. South African Journal of Botany, 72: 272-279.
– Cho, UH. and Park, JO., 2000. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. Plant Sci; 156: 1-9.
– Ebermann, R. and Stich K., 1982. Peroxidase and Amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of stress . Phytochem, 21: 2401-2402.
– Koca, H., Bor, M., Ozdemir F., Turkan I., 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environ. Expansive of Botanical., 60: 344-351.
– Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science., 7: 405-410.
– Monerri, C. and Guardiola, J., 2001. Peroxidase activity and isoenzyme profile in buds and leaves in relation to flowering in Atsuma mandarin (*Cirtus unshiu*). Scientia Horticul turae, 90: 34-56.
– Moerschbacher, B.M., 1992. Plant peroxidases involvement in response to pathogens.
– In: Penel. C., (eds.). Plant peroxidases, topics and detailed literature on molecular, biochemical and physiological aspects. University of Geneva: 91-99
– Morsy, M.R., Almutairi, M.A., Gibbons, J., Joon, Y.S., and De Los Reyes B.G., 2005. The OsLti6 genes encoding low molecular Weight membrane proteins are differentially expressed in rice cultivars with contrasting sensitivity to low temperature. Gene, 344: 171-80.
– Oidaira, H., Satoshi, S., Tomokazu, K. and Takashi, U., 2000. Enhancement of antioxidant enzyme activities in cilled rice seedlings. Plant Physiology, 156: 811-813.
– Patterson, W.R. and Poulos, T.L., 1995. Crystal structure of recombinant pea cytosolic ascorbate peroxidase. Biochemistry, 34:4331-4341.
– Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. 2005. The effect of NACL on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. Biology of Plant, 49: 93-97.
– Schittenhelm, J., Toder S., Fath S., Westphal S and Wagner E., 2006. Photoinactivation of catalase in needs of Norway spruce. Physiologia Plantarum, 90: 600-606.
– Zolfaghari, R., Kororri S. and Etemad V., 2005. Changes in the activity of amylase, peroxidase and catalase in beech (*Fagus orientalis* Lipsky) during dormancy and growth. Acta Biologica Hungarica, 56: 3054-311.

Comparing the effect of chilling stress on peroxidase activity in *Eucalyptus* Seedlings

Z. Shams*[1], M.H. Assareh[2], S. Enteshari[3], M. Matinizadeh[4] and A. Ghamari-Zare[5]

1*- Corresponding author, Research Expert, M.Sc., Payam Noor University, Isfahan I.R. Iran
Email: amsham@yahoo.com
2- Prof., Forest and Rangelands Research Institute, Tehran, I.R. Iran
3- Assis. Prof., Payam Noor University, Isfahan, I.R. Iran
4- Assis. Prof., Forests and Rangelands Research Institute, Tehran, I.R. Iran
5- Assis. Prof., Forests and Rangelands Research Institute, Tehran, I.R. Iran

Received: 22.05.2010 Accepted: 12.12.2010

Abstract

Regarding to the importance of *Eucalyptus* as a pioneer and fast growing species in forest plantation, this research was performed to test the effects of chilling stress on seedlings of *E. saligna*, *E. camaldulensis* and *E. rubida*. The activities of perixidase enzyme were determined in leaves of the species exposed to chilling stress. Temperature treatments were -20, 5, and 24°C and green house condition was considered as control. The samples enzymes were extracted immediately and peroxidase was quantitatively and qualitatively studied. Quantitative studies were accomplished by spectrophotometry (in 530 NM Wave Length) and qualitative studies were performed by polyacrylamid gel electrophoresis (PAGE). Results showed that chilling stress altered the activity of peroxidase in leaves, compared to the control. Also, the enzyme altered in different manners dependent upon several factors, such as plant species, tolerance, or sensitivity to stress, and duration of stress. All of these results seemed to indicate that peroxidase is an important component in a plant's response to stress and that they played a significant role in counteracting chilling stress.

Key words: Chilling stress, *Eucalyptus*, Peroxidase (POX), species.