

بررسی خصوصیات اکوفیزیولوژی راش شرقی در چهار رویشگاه مختلف جنگل های هیرکانی

زهرة سعیدی^۱، داوود آزادفر^{۲*}، خسرو ثاقب طالبی^۳، مسعود توحیدفر^۴

- ۱- دکتری علوم جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. (saeedizohre@gmail.com)
- ۲- دانشیار، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. (azadfar@gu.ac.ir)
- ۳- استاد، بخش جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. (saghebtalebi@rifr-ac.ir)
- ۴- دانشیار، دانشکده مهندسی فناوری های نوین، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران. (gtohidfar@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۱۸

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، سنجش مقدار تحت تنش کم آبی بودن درختان مادری در رویشگاه اصلی در وسط تابستان با مقایسه مقدار سه آنزیم مهم پاسخ به این تنش و رنگیزه های فتوسنتزی در رویشگاه های مورد بررسی است. برای انجام این پژوهش با توجه به پراکنش راش شرقی چهار رویشگاه با مقدار بارندگی و اقلیم متفاوت در استان های گیلان، مازندران و گلستان برای نمونه برداری انتخاب شدند. نمونه برداری در هر منطقه از برگ ۱۵ درخت مادری انجام شد و سپس آنزیم های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و رنگیزه های کلروفیلی شامل کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جمعیت های درختان مادری راش در کلیه مناطق مورد بررسی، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی متفاوتی بوده و در این بین منطقه شصت کلاته که کمترین مقدار بارندگی را نسبت به دیگر مناطق داشت دارای سطوح بالاتر آنزیم های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بود. همچنین تمام مناطق مورد بررسی دارای مقدار کلروفیل a متفاوت بودند به طوری که جمعیت های شصت- کلاته و سپس خیرود بالابند دارای کمترین مقدار کلروفیل هستند. نتایج همبستگی نیز حاکی از ارتباط معنی دار مثبت بین مقدار کلروفیل a و مقدار بارندگی مناطق مورد بررسی است. مقدار کلروفیل a و آنزیم های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به عنوان صفات مؤثر در پاسخ به خشکی درختان مناطق مورد بررسی معرفی شدند.

واژه های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، راش شرقی، رنگیزه های کلروفیلی، کاتالاز.

مقدمه

اکسیدان دارند (Mittler, 2002). دیگر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، آلکالوئیدها و کاروتنوئید هستند (Gratao et al., 2005). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، اسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و پراکسی ردوکسین (Prx) است. با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی را ارزیابی شد. این شاخص‌ها می‌تواند به تشخیص درست نقاط ضعف و قوت گیاهان در شرایط تنش و گزینش درست آن‌ها برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی کمک کند. کلروفیل‌ها (a و b)، مهم‌ترین رنگدانه‌های برگ گیاهی هستند که به‌عنوان اولین جذب‌کننده نور خورشید در مسیر فتوسنتز شناخته شده‌اند. محتوای کلروفیل برگ یکی از شاخص‌های مهم مربوط به وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان است، به‌طوری که کاهش غلظت آن سبب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود. تحت تنش کم آبی معمولاً محتویات کلروفیل به‌علت کاهش سنتز یا از بین رفتن سریع آن، کم می‌شود (Ashraf, 2003). کاروتنوئیدها از دیگر رنگدانه‌های گیاهی هستند که در تمامی گیاهان فتوسنتز کننده ساخته شده (Simkin, 2008) و دارای انواع متنوعی مانند لیکوپن، بتاکاروتن یا گزانتوفیل‌ها هستند (Jaleel, 2008). کاروتنوئیدها دو نقش عمده در گیاهان دارند. اولین نقش آن‌ها به‌عنوان رنگدانه دریافت‌کننده نور برای استفاده در فرآیند فتوسنتز است. نقش دوم آن‌ها به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی، جلوگیری از تشکیل اکسیژن واحد است (Price, 1989). با ارزیابی محتویات و نسبت رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌توان اطلاعات با ارزشی در رابطه با سازگاری گیاه به خشکی به‌دست آورد. طی پژوهشی با هدف بررسی نقش سایه در

جنگل‌های خالص و آمیخته راش (*Fagus orientalis*) Lipsky) مهم‌ترین جنگل‌های راش ناحیه خزری ایران و متعلق به دوران سوم زمین‌شناسی است. از آنجایی که دوران یخبندان بر روی جنگل‌های هیرکانی تأثیر مستقیم نگذاشته، راش در این جنگل‌ها تغییرات محیطی و زمین‌شناختی زیادی را تحمل کرده است (Mobayen and Tregubov, 1969). بنابراین تکامل جوامع فعلی راش از دوران سوم زمین‌شناسی تاکنون ادامه داشته است. راش در جنگل‌های هیرکانی در عرض جغرافیایی ۳۶ تا ۳۸ درجه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ تا ۵۸ درجه شرقی، یعنی تقریباً از آستارا با بیشترین مقدار بارندگی حدود ۲۰۰۰ میلی‌متر تا گرگان با کمترین مقدار بارندگی حدود ۶۰۰ میلی‌متر پراکنش دارد. درختان جنگلی از طیف وسیعی از استراتژی‌ها برای مقابله با خشکی استفاده می‌کنند. مجموعه‌ای از تغییرات مولکولی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی زیر بنای پاسخ گیاه به محرومیت از آب است و اندازه این پاسخ‌ها بسیار متغیر و پیچیده است (Chaves et al., 2003).

قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط نامطلوب زیست‌محیطی سبب افزایش تولید انواع اکسیژن فعال مانند اکسیژن واحد، سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود. فرآیند سم‌زدایی اکسیژن فعال در گیاهان برای حمایت از سلول‌های گیاهی و اندامک‌های خود در برابر اثر سمی این ماده ضروری است (Mittler, 2002). سیستم سم‌زدایی ROS (اکسیژن فعال) شامل سازوکارهای آنزیمی و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی است (Scandalios, 2005). آسکوربات و گلوکاتایون، آنتی‌اکسیدان‌های بسیار مهم غیرآنزیمی برای دفاع گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو هستند که نقش کلیدی به‌عنوان بافر آنتی-

خشکی نشان دادند به طوری که جمعیت منطقه خشک مقدار پرولین، کارتنوئید و نسبت کارتنوئید به کلروفیل بالاتر و مقدار فعالیت پراکسیداز بیشتر نسبت به جمعیت مرطوب داشت. این نتایج نشان داد که جمعیت منطقه خشک تحمل به خشکی بالاتری نسبت به جمعیت مرطوب دارد. این تحمل به خشکی ممکن است مرتبط با افزایش مقدار پرولین بیشتر و ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی فعال‌تر برای از بین بردن اکسیژن-های فعال باشد (Xiao and Yang, 2008). Yin و همکاران (2009)، نهال‌های دو گونه صنوبر متعلق به ارتفاعات بالا و پایین را تحت تنش کم‌آبی قرار داده و اثر تنش را بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گلخانه مورد بررسی قرار دادند. کمبود آب سبب افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی مثل افزایش آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز و اسیدآسکوربیک شد و همچنین مقدار رنگدانه‌های برگ مثل کلروفیل‌ها و کارتنوئید کاهش یافت. علاوه بر این تفاوت معنی‌داری در مقدار تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در دو گونه مشاهده شد. در آخر نتیجه‌گیری شد که گونه *Populus przewalskii* که مبدأ آن ارتفاعات بالا بود نسبت به گونه *P. cathayana* با زیستگاه پایین، مکانیسم‌های حفاظتی کارتری را دارد (Yin et al., 2009). همچنین نتایج پژوهش اثر ارتفاع از سطح دریا بر روی گونه راش شرقی (*Fagus orientalis*) در جنگل‌های گیلان حاکی از اثر معنی‌دار این شاخص بر مورفوفیزیولوژی برگ مانند محتوای آب نسبی بود (Mohebi Bijarpasi et al., 2019). در پژوهشی دیگر اثرهای تنش خشکی بر مقدار کلروفیل و فعالیت آنزیمی نهال‌های آکاسیا (*Acacia victoria*) بررسی شد. نتایج آنالیز واریانس اثر معنی‌دار تنش خشکی بر مقدار کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را نشان داد. در این

تعدیل عوارض ناشی از تنش خشکی بر فیزیولوژی نونهال‌های بنه نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش شدید محتوای نسبی آب و غلظت کلروفیل کل، a و b برگ می‌شود (Sadeghzadeh Hallaji et al., 2017). همچنین تأثیر تنش خشکی بر ۵ گونه اکالیپتوس نشان داد که این تنش سبب کاهش مقدار کلروفیل و کارتنوئید می‌شود (Hashempour et al., 2011). تأثیر تیمار تنش خشکی روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی نهال‌های یک ساله افرا شیردار (*Acer cappadocicum* Gled نشان داد که این تنش موجب تغییر مقدار کلروفیل b و فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ می‌شود (Asgharpour et al., 2017). عملکرد فیزیولوژیک نهال‌های دو ساله گیاه زیتون (*Olea europaea*) به تنش خشکی طی پژوهشی مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور شاخص‌هایی مانند پروتئین، آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و میزان بتائین، کلروفیل و تعداد روزنه‌ها در واحد سطح برگ اندازه‌گیری شد. تنش خشکی موجب تجمع معنی‌دار میزان آنزیم پراکسیداز در برگ گیاه زیتون شد. مقدار کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل در کلیه ارقام زیتون مورد بررسی، تحت تنش کاهش نشان داد (Zarabi et al., 2007). در پژوهشی دیگر قلمه‌های رویشی جوان صنوبر (*Populus cathayana*) از دو منطقه آب و هوایی با رطوبت متفاوت به منظور بررسی سازگاری‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی به خشکی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پاسخ سازگاری به تنش تحت تأثیر ژنوتیپ و شدت تنش قرار گرفت. خشکی سبب افزایش سیستم آنتی-اکسیدانی شامل افزایش آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز شد. همچنین تنش سبب افزایش مقدار پرولین، قندهای محلول، محتوای کارتنوئید و کاهش رشد شد. دو جمعیت پاسخ‌های متفاوتی به

شفارود با اقلیم خیلی مرطوب نوع الف) و دو ریشگاه در دو حد پایین و بالا پراکنش ارتفاع از سطح دریای این گونه در وسط دو ریشگاه پراکنش شرقی و غربی در استان مازندران (جنگل خیرودکنار با اقلیم خیلی مرطوب نوع ب در پایین بند و اقلیم مرطوب سرد در بالابند) با جهت شمالی و شیب مشابه حدود ۳۰ درصد به منظور نمونه برداری انتخاب شدند (جدول ۱). لازم به ذکر است که طبقه بندی اقلیم ها بر اساس طبقه بندی اقلیمی دومارتن و آمبرژه از اطلاعات هواشناسی کتابچه های طرح جنگلداری مربوطه استخراج شده است. نمونه برداری در هر منطقه از ۱۵ درخت مادری با قطر مشابه با فاصله حداقل ۱۰۰ متر از یکدیگر و از برگ های سالم انجام شد. نمونه ها در تانک ازت مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد واقع در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و اکوفیزیولوژی دانشکده علوم جنگل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد.

بررسی محتوای کلروفیل با افزایش تنش ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. بالاترین مقدار کلروفیل در تنش ۳۰ درصد و کمترین مقدار در تنش ۱۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (Tongo et al., 2014). همانطور که در پژوهشهای مختلف دیده می شود واکنش فیزیولوژیک گیاهان در پاسخ به تنش خشکی تغییرات مقدار رنگدانه های برگ و آنزیم های آنتی اکسیدانی برای کاهش اثر سمی H₂O₂ است؛ بنابراین هدف از انجام این پژوهش مقایسه جمعیت های مادری درختان راش در مقابل تنش خشکی از طریق ارزیابی مقدار رنگدانه ها و آنزیم های آنتی اکسیدانی برگ است.

مواد و روش ها

الف- ریشگاه های مورد بررسی

با توجه به پراکنش گونه راش شرقی در جنگل های شمال کشور، دو ریشگاه در آخر پراکنش شرقی و غربی این گونه به ترتیب در استان گلستان (جنگل شصت کلاته با اقلیم نیمه مرطوب) و گیلان (جنگل

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و اقلیمی مناطق مورد بررسی

Table 1. Geographic and climatic characteristics of the studied regions

منطقه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین دمای ماهانه (درجه سانتی گراد)	بارندگی سالانه (میلی متر)
Region	Above sea level (m)	Monthly temperature means (°C)	Annual precipitation (mm)
شفارود	1045	11.16	1054
شفارود	1045	11.16	1054
خیرود پایین بند	429	16	1414
Downland Kheyrood	429	16	1414
خیرود بالابند	1136	8.55	1150
Upland Kheyrood	1136	8.55	1150
شصت کلاته	910	15.4	610
Shastkalateh	910	15.4	610

ب- سنجش آنزیم های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز
برای استخراج آنزیم ابتدا نمونه های برگ در هاون استریل شده به کمک ازت مایع خرد شده و سپس یک

گرم از نمونه با ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم وزن و داخل لوله آزمایش ریخته و سه میلی لیتر محلول استخراج به آن ها اضافه و درب لوله با پارافیلیم استریل شده بسته شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئیدها) بر اساس روش (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. براساس این روش ۰/۵ گرم بافت تازه برگ‌گی وزن و در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع به‌خوبی خرد شد. سپس پنج میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد به آن اضافه و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار جذب در طول موج-های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ برای کارتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر قرائت و با استفاده از فرمول‌های زیر مقدار کلروفیل a (رابطه ۱)، b (رابطه ۲)، کل (رابطه ۳) و کاروتنوئیدها (رابطه ۴) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

رابطه (۱) Chlorophyll a = (12.25 A663 - 2.79 A645) V/100W

رابطه (۲) Chlorophyll b = (21.50 A645 - 5.10 A663) V/100W

رابطه (۳) Chlorophyll total = (7.15 A663 - 18.71 A645) V/100W

رابطه (۴) Carotenoides = 100 A470 - 1.82 (mg chl. a) - 85.02 (mg chl. b)/198

V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A = جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W = وزن تر نمونه بر حسب گرم

د- تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه، مقایسات چندگانه دانکن و همبستگی پیرسون در نرم‌افزار SPSS ver. 21 و تجزیه به مولفه‌های اصلی در نرم‌افزار PAST انجام شد.

نتایج

الف- فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز

سانتی‌گراد در یخچال نگهداری و سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت رویی و شفاف برای بررسی کمی پراکسیداز در فریزر نگهداری شد (Eberman and Strich, 1982). برای اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی پراکسیداز ۲ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۰۱ مولار (pH= ۷)، ۰/۴ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزدین ۰/۰۱ مولار با هم مخلوط و میزان ۵۰ میکرولیتر عصاره به آن اضافه شد و بعد از به‌هم زدن، به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UNICO 2100UV مقدار جذب نور در طول موج ۵۳۰ نانومتر در زمان‌های ۱۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه قرائت شد و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در واحد زمان محاسبه شد. برای انجام سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، به دو میلی‌لیتر بافر فسفات با pH برابر ۷، عصاره آنزیمی ۵۰ میکرولیتر و ۲ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد اضافه شد. فعالیت آنزیم با اضافه شدن آب اکسیژنه شروع شد. مقدار کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر با ۱۰ ثانیه تأخیر در طول ۶۰ ثانیه قرائت و به‌عنوان فعالیت در واحد زمان ثبت شد (Chance and Maehly, 1955). برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز، محیط واکنش حاوی ۶۰۰ میکرولیت EDTA ۰/۱ مولار، ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار (pH= ۷)، ۴۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار، ۰/۳ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد و مقدار کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ نانومتر با ۱۵ ثانیه تأخیر در طول ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه قرائت و میانگین آن‌ها به‌عنوان فعالیت در واحد زمان ثبت شد (Ranieri et al., 2003).

ج- سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

پراکسیداز در دسته‌های جدا قرار داد. به طوری که شصت کلاته با بالاترین میزان پراکسیداز در دسته جداگانه‌ای قرار گرفت (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی پراکسیداز ۴ منطقه حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین مناطق است (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نیز مناطق را از نظر میزان

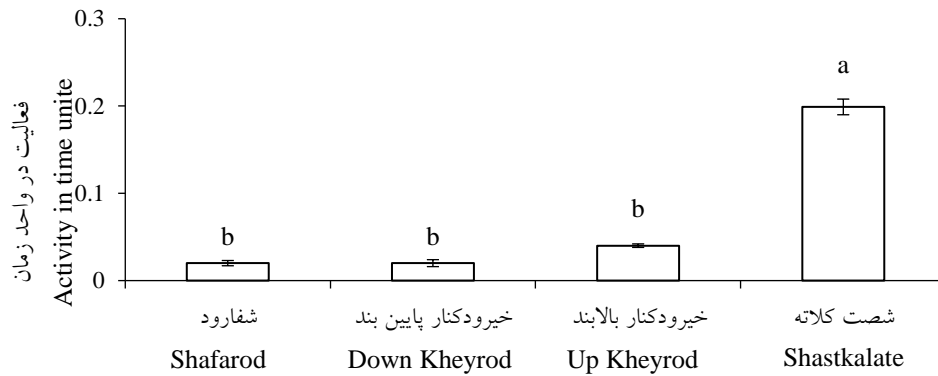
جدول ۲- تجزیه واریانس فعالیت کمی آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز راش شرقی در چهار رویشگاه مختلف

Table 2. Analysis variance of peroxidase, ascorbate peroxidase and catalase activity of *Fagus orientalis* in four different sites

F	میانگین مربعات MS	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	منبع تغییرات Source	صفت Trait
6.90**	0.112	3	0.337	رویشگاه Stand	پراکسیداز Peroxidase
	0.016	56	0.913	خطا Error	
		59	1.250	کل Total	
11.464**	0.000	3	0.000	رویشگاه Stand	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
	0.000	56	0.000	خطا Error	
		59	0.000	کل Total	
2.699 ^{ns}	0.000	3	0.000	رویشگاه Stand	کاتالاز Catalase
	0.000	56	0.000	خطا Error	
		59	0.000	کل Total	

** : معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد خطا، ^{ns}: غیر معنی‌دار.

** : Significant in one percent error level, ns: Non significant.

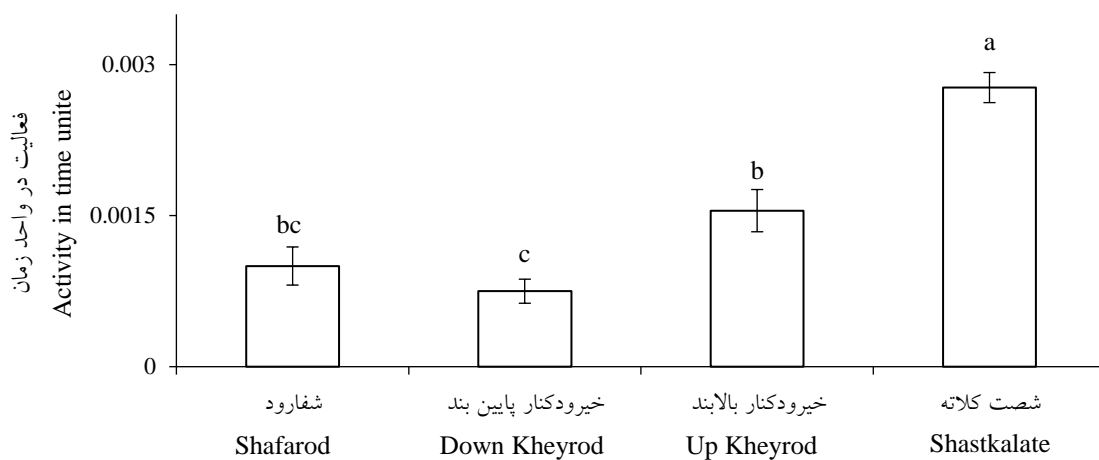


شکل ۱- مقایسه میانگین فعالیت کمی پراکسیداز راش شرقی در چهار رویشگاه مختلف

Figure 1. Comparison of mean peroxidase activity of *Fagus orientalis* in four different sites

خطا دارند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن نشان داد که شصت کلاته بالاترین مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را دارا است (شکل ۲).

ب- فعالیت کمی آنزیم آسکوربات پراکسیداز
نتایج تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ۴ منطقه جغرافیایی مختلف گونه راش نشان داد که ۴ منطقه از نظر فعالیت این آنزیم با یکدیگر تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد



شکل ۲- مقایسه میانگین فعالیت کمی آسکوربات پراکسیداز راش شرقی در چهار رویشگاه مختلف

Figure 2. Comparison of mean ascorbate peroxidase activity of *Fagus orientalis* in four different sites

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید نشان داد که ۴ منطقه فقط از نظر مقدار کلروفیل a در سطح ۵ درصد خطا با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (جدول ۳). مقایسه میانگین-ها از طریق آزمون دانکن نیز این ۴ منطقه را از نظر

ج- سنجش فعالیت کمی آنزیم کاتالاز
براساس نتایج تجزیه و تحلیل واریانس فعالیت کمی آنزیم کاتالاز، بین ۴ منطقه از نظر فعالیت این آنزیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

د- سنجش رنگی‌های فتوسنتزی

میزان کلروفیل a در دسته‌های جدا قرار داد (شکل ۳)، مقدار کلروفیل را به خود اختصاص دادند و از این نظر به طوری که شفارود و خیرودکنار پایین بند بیشترین اختلاف معنی داری با خیرودکنار بالابند نداشتند.

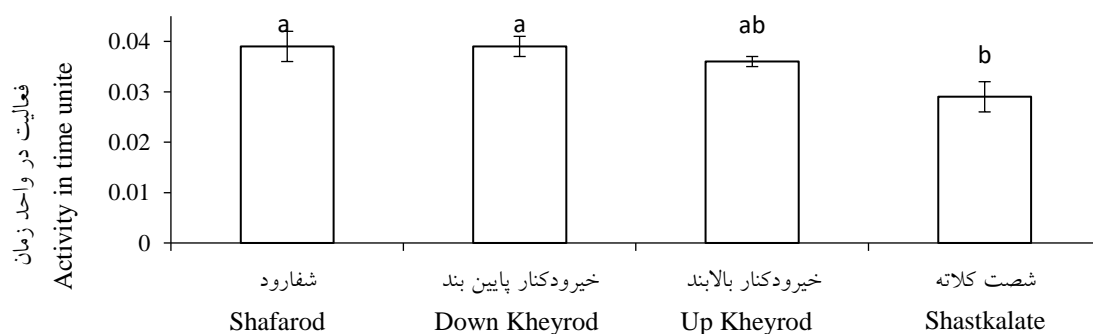
جدول ۳- تجزیه واریانس مقدار رنگدانه‌های مختلف راش شرقی در چهار رویشگاه مختلف

Table 3. Analysis of variance of different pigments amount of *Fagus orientalis* in four different sites

F	میانگین مربعات MS	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	منبع تغییرات Source	صفت Trait
3.068*	0.000	3	0.001	رویشگاه Stand	کلروفیل a Chlorophyll a
	0.000	56	0.006	خطا Error	
		59	0.007	کل Total	
0.818 ^{ns}	0.000	3	0.000	رویشگاه Stand	کلروفیل b Chlorophyll b
	0.000	56	0.003	خطا Error	
		59	0.003	کل Total	
0.507 ^{ns}	0.000	3	0.001	رویشگاه Stand	کلروفیل کل Total chlorophyll
	0.000	56	0.026	خطا Error	
		59	0.027	کل Total	
1.289 ^{ns}	1.257	3	3.770	رویشگاه Stand	کارتنوئید Carotenoid
	0.975	56	54.590	خطا Error	
		59	58.360	کل Total	

*: معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد خطا، ^{ns}: غیر معنی دار

*: Significant in five percent error level, ^{ns}: Non significant



شکل ۳ - مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a راش شرقی در چهار رویشگاه مختلف

Figure 3. Comparison of mean chlorophyll a of *Fagus orientalis* in four different sites

نتایج ضرایب همبستگی پیرسون بین تمامی صفات بیوشیمیایی و متغیرهای ارتفاع از سطح دریا، درجه حرارت و مقدار بارندگی رویشگاه‌های مختلف نشان داد که بین آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با بارندگی همبستگی منفی در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. بین کاتالاز و دما همبستگی منفی و با ارتفاع از سطح دریا همبستگی مثبت مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که بین پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز همبستگی مثبت در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد. کلروفیل a با کلروفیل b، کل، کارتنوئید و بارندگی همبستگی مثبت نشان داد (جدول ۴). نتایج آنالیز مولفه‌های اصلی نشان داد که مولفه‌های اول و دوم به ترتیب ۴۴/۵۷ و ۱۹/۶۲ درصد و در مجموع ۶۷/۱۹ درصد از تغییرات واریانس را توجیه می‌کنند. به طوری که کلروفیل کل، کارتنوئید و کلروفیل‌های a، b به ترتیب بیشترین همبستگی مثبت را با مولفه اول و آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز بیشترین همبستگی را با مولفه دوم نشان دادند (جدول ۵).

بحث

شرایط نامطلوب زیست‌محیطی مانند تنش خشکی سبب افزایش تولید انواع اکسیژن فعال در گیاه می‌شود. تعادل بین انواع اکسیژن فعال و توانایی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی برای مهار آن‌ها در گیاهان مهم بوده و توانایی غلبه به اثرهای مختلف تنش‌ها و حفظ بهره‌وری را برای گیاه مهیا می‌سازد. فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان مقاوم به تنش خشکی در مقایسه با گیاهان حساس، نقش مهمی در مقاومت گیاهان به تنش مذکور را دارد (Tsugane, 1999). نتایج این پژوهش نشان داد که جمعیت‌های درختان مادری راش در عرصه‌های طبیعی‌شان در اوج فشار

خشکی در وسط تابستان و بیش از یک ماه عدم بارندگی در کلیه مناطق مورد بررسی، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی بوده و در این بین جمعیت‌های منطقه شصت‌کلاته دارای سطوح بالاتر آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و سطح مشابه کاتالاز نسبت به دیگر مناطق بودند. همچنین در مقایسه تأثیر ارتفاع از سطح دریا بر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، فقط سطح بالاتر آسکوربات پراکسیداز در جمعیت ارتفاع خیرود بالابند نسبت به پایین‌بند مشاهده شد. (Zarabi et al., 2007). پژوهش‌های متعدد بر روی دیگر پهن‌برگان نیز نشان داده است که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شده و افزایش تحمل به خشکی جمعیت‌های مناطق خشک‌تر نسبت به مناطق مرطوب‌تر بیشتر بوده است (Wu et al., 2008; Tango et al., 2014; Xia et al., 2013) که با نتایج این پژوهش همسو است. نتایج پژوهش دیگر بر روی گونه‌های صنوبر نیز حاکی از بالاتر بودن مکانیسم‌های حفاظتی در مقابله با تنش خشکی در گونه با مبدأ ارتفاعات بالاتر نسبت به گونه با مبدأ ارتفاعات پایین‌تر بوده است (Yin et al., 2009) که به نتایج این پژوهش مشابه است؛ بنابراین براساس سوابق ذکر شده و همچنین با توجه به شاخص خشکی مناطق مورد بررسی، به‌طور کلی می‌توان بیان داشت که عوامل تنش محیطی مانند کمبود آب در منطقه شصت کلاته و سپس خیرود بالابند به‌حدی بوده است که سبب فعال‌سازی مکانیسم‌های پاسخ به خشکی در آن‌ها شده و آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز همگام با هم و در همبستگی منفی با گرادیان بارندگی، افزایش یافتند؛ اما سطوح پایین‌تر آنتی‌اکسیدان‌ها در دیگر مناطق می‌تواند به‌علت کافی نبودن فشار تنش با

توجه به شرایط اقلیمی آن‌ها و یا عدم توانایی پاسخگویی مناسب جمعیت‌ها به تنش باشد که بررسی بیان ژن‌های پاسخ به تنش کم‌آبی در این مناطق می‌تواند راهگشای این مطلب باشد.

جدول ۴- همبستگی پیرسون بین صفات بیوشیمیایی و خصوصیات اقلیمی چهار رویشگاه مختلف

Table 4. Pearson correlation between biochemical traits and climatic characteristics of four different sites

ارتفاع از سطح دریا Altitude	بارندگی Precipitation	دما Temperature	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	کاتالاز Catalase	صفات Traits
0.002	-0.467**	0.217	0.112	0.115	0.102	-0.043	0.309*	0.070	پراکسیداز Peroxidase
0.332**	-0.085	-0.296*	0.143	0.005	0.146	0.124	0.008	1	کاتالاز Catalase
0.151	-0.567**	0.098	0.038	0.051	0.062	-0.126	1		آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
-0.020	0.328*	-0.127	0.061**	0.674**	0.747**	1			کلروفیل a Chlorophyll a
0.151	0.031	-0.163	0.643**	0.684**	1				کلروفیل b Chlorophyll b
0.106	-0.010	-0.093	0.825**	1					کلروفیل کل Total Chlorophyll
0.056	0.118	-0.095	1						کارتنوئید Carotenoid

* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

*: Significant in five percent error level, ns: Non significant

می‌دهد که به‌طور کلی مقدار کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل تحت تنش کمبود آب در درختان کاهش می‌یابد (Zarabi et al., 2007, Yin et al., 2009, Wu et al., 2013, Tongo et al., 2014) و این کاهش در کلروفیل a به‌علت حساسیت بیشتر آن نسبت به کلروفیل b است (Jaleel et al., 2009). همچنین نتایج همبستگی نیز حاکی از ارتباط معنی‌دار مثبت بین مقدار کلروفیل a و مقدار بارندگی مناطق مورد بررسی است. آب در سنتز کلروفیل نقش مهمی دارد، به‌طوری‌که در شرایط رطوبتی خوب مقدار آن افزایش و در زمان کم‌آبی کاهش می‌یابد؛ بنابراین به-

محتوای کلروفیل برگ یکی از شاخص‌های مهم مربوط به وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان است. تحت تنش کم‌آبی معمولاً محتویات کلروفیل به‌علت کاهش سنتز و یا از بین رفتن سریع آن، کاهش می‌یابد که مقدار این کاهش بسته به ژنوتیپ گیاه متفاوت است (Ashraf, 2003). نتایج این پژوهش نشان داد که جمعیت‌های درختان مادری راش در عرصه‌های طبیعی‌شان در کلیه مناطق مورد بررسی، دارای مقدار کلروفیل a متفاوت هستند به‌طوری‌که جمعیت‌های شصت‌کلاته و سپس خیرود بالابند دارای کمترین مقدار کلروفیل هستند. نتایج پژوهش‌های متعدد نشان

رنگدانه‌ای مورد بررسی، جمعیت‌های مناطق شصت کلاته و سپس خیرود بالابند بیشتر از دو منطقه دیگر تحت فشار خشکی بوده که سبب فعال‌سازی مکانیسم‌های حفاظتی در مقابل اثرهای سوء تنش کمبود آب نسبت به دو منطقه دیگر شده است و مقدار کلروفیل a و آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان صفات مؤثر و معنی‌دار در پاسخ به خشکی درختان مناطق مورد بررسی معرفی شدند.

طور کلی براساس سوابق ذکر شده و همچنین با توجه به شاخص اقلیمی مناطق مورد بررسی می‌توان بیان داشت که فشار تنش کمبود آب بر درختان مناطق شصت کلاته و خیرود بالابند بیشتر از دیگر مناطق بوده و آن‌ها را به‌طور مشابه وادار به واکنش متفاوت از نظر کلروفیل a نسبت به درختان دو منطقه دیگر کرده است. نتایج این بررسی به‌طور کلی نشان می‌دهد که با توجه به شاخص اقلیمی مناطق و تجزیه به مولفه‌های اصلی کلیه صفات فیزیولوژیک آنتی‌اکسیدانتی و

جدول ۵- تجزیه به مولفه‌های اصلی صفات مورد بررسی در چهار رویشگاه مختلف

Table 5. Principal component analysis of studied traits in four different sites

مولفه دوم Second component	مولفه اول First component	صفات Traits
0.774	0.125	پراکسیداز Peroxidase
0.107	0.175	کاتالاز Catalase
0.822	-0.004	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
-0.279	0.851	کلروفیل a Chlorophyll a
0.029	0.875	کلروفیل b Chlorophyll b
0.047	0.901	کلروفیل کل Total chlorophyll
0.064	0.876	کارتنوئید Carotenoid
19.62	44.57	واریانس (درصد) Variance (%)
64.19	44.57	واریانس تجمعی Cumulative variance (%)

References

- Asgharpour, E.; Azadfar, D.; Saeedi, Z., Evaluation of *Acer cappadocicum* Gled seedlings to drought stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)* **2017**, *30* (1), 1-11.
- Ashraf, M., Relationships between leaf gas exchange characteristics and growth of

- differently adapted populations of Blue panicgrass (*Panicum antidotale* Retz.) under salinity or waterlogging. *Plant science* **2003**, *165* (1), 69-75.
- Chance, B.; Maehly, A., [136] Assay of catalases and peroxidases. **1955**.
- Chaves, M. M.; Maroco, J. P.; Pereira, J. S., Understanding plant responses to drought—

- from genes to the whole plant. *Functional plant biology* **2003**, 30 (3), 239-264.
- Ebermann, R.; Stich, K., Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. *Phytochemistry* **1982**, 21 (9), 2401-2402.
- Gratão, P. L.; Polle, A.; Lea, P. J.; Azevedo, R. A., Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional plant biology* **2005**, 32 (6), 481-494.
- Hashempour, F.; Rostami, S. T.; Assareh, M.; Shariat, A., Impact of drought stress on some physiological traits in five Eucalypt species. **2011**, 19 (2), 222-233. (In Persian)
- Jaleel, C. A.; Manivannan, P.; Lakshmanan, G.; Gomathinayagam, M.; Panneerselvam, R., Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* **2008**, 61 (2), 298-303.
- Jaleel, C. A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Al-Juburi, H. J.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R., Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol* **2009**, 11 (1), 100-105.
- Lichtenthaler, H. K., Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* **1987**, 148, 350-382.
- Mittler, R., Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science* **2002**, 7 (9), 405-410.
- Mobayen, S.; Tregubov, V., The vegetative map of Iran; Tehran University press, 1969; p 50.
- Price, A. H.; Atherton, N. M.; Hendry, G. A., Plants under drought-stress generate activated oxygen. *Free radical research communications* **1989**, 8 (1), 61-66.
- Ranieri, A.; Castagna, A.; Pacini, J.; Baldan, B.; Mensuali Sodi, A.; Soldatini, G., Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany* **2003**, 54 (392), 2529-2540.
- Rostami, S. T.; Samizadeh, L. H., Changes in leaf morphological characteristics of *Fagus orientalis* Lipesky along altitudinal gradients (Case study: Gilan forests, Masal). *Journal of Forest Research and Development* **2019**, 5 (1), 27-40. (In Persian)
- Sadeghzadeh Hallaj, M.; Azadfar, D.; Nodoushan, H.; Arzanesh, M. H.; Tohidfar, M., Shade role in facilitation drought stress symptoms on physiology of mount Atlas mastic (*Pistacia atlantica* Desf.) seedlings. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research* **2017**, 25 (2), 332-341. (In Persian)
- Scandalios, J., Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian journal of medical and biological research* **2005**, 38 (7), 995-1014.
- Simkin, A. J.; Moreau, H.; Kuntz, M.; Pagny, G.; Lin, C.; Tanksley, S.; McCarthy, J., An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *Journal of plant physiology* **2008**, 165 (10), 1087-1106.
- Tongo, A.; Mahdavi, A.; Sayad, E., Effect of superabsorbent polymer aquasorb on chlorophyll, antioxidant enzymes and some growth characteristics of *Acacia victoriae* seedlings under drought stress. *Ecopersia* **2014**, 2 (2), 571-583.
- Tsugane, K.; Kobayashi, K.; Niwa, Y.; Ohba, Y.; Wada, K.; Kobayashi, H., A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *The Plant Cell* **1999**, 11 (7), 1195-1206.
- Wu, M.; Zhang, W.; Ma, C.; Zhou, J., Changes in morphological, physiological, and biochemical responses to different levels of drought stress in Chinese cork oak (*Quercus variabilis* Bl.) seedlings. *Russian journal of plant physiology* **2013**, 60 (5), 681-692.
- Xiao, X.; Xu, X.; Yang, F., Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cathayana* populations. *Silva Fennica* **2008**, 42 (5), 705-719.
- Yin, C.; Pang, X.; Lei, Y., *Populus* from high altitude has more efficient protective mechanisms under water stress than from low-altitude habitats: a study in greenhouse for cuttings. *Physiologia plantarum* **2009**, 137 (1), 22-35.
- Zarabi, M. M.; Talaei, A.; Hadad, R., Physiological role and biochemical changes of six olive cultivars (*Olea europaea* L.) against drought stress, *Journal of horticulture science* **2007**, 24 (2), 234-244. (In Persian)

Study of the ecological characteristics of *Fagus orientalis* Lipsky in four different sites of Hyrcanina forests

Z, Saeedi¹, D, Azadfar^{*2}, Kh, Saghebalebi³ and M, Tohidfar⁴

1- PhD of Forest Science, Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Science and Natural resources, Gorgan, I. R. Iran. (saeedizohre@gmail.com)

2- Associate professor, Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Science and Natural resources, Gorgan, I. R. Iran. (azadfar@gau.ac.ir)

3- Professor, Forest Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR), Agricultural Research, education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran. (saghebalebi@rifr-ac.ir)

4- Associate Professor, Shahid Beheshti University, Tehran, I. R. Iran. (gtohidfar@yahoo.com)

Received: 08.05.2019

Accepted: 11.11.2019

Abstract

The aim of this study was to measure the amount of dehydration stress in native trees in the middle of summer by comparing the three important enzymes response to this stress and photosynthetic pigments in the studied habitats. In order to carry out this research, four habitats in Guilan, Mazandaran and Golestan provinces were selected for sampling. From each region, 15 mother trees were selected. Peroxidase enzymes, catalase and ascorbate peroxidase and chlorophyll pigments including chlorophyll a, b, total and carotenoids were measured. The results of this study showed that *Fagus* populations in all regions had different antioxidant activity at the peak of drought stress in the middle of summer, so that the population of Shastkalateh with the least rainfall compared to other areas, had higher levels of peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes. Also, all regions of the study had a different chlorophyll a content, so that the populations of Shastkalateh and then Up land kheyrood had the lowest chlorophyll content. The correlation results indicate a significant positive correlation between chlorophyll a and rainfall in the studied areas. Chlorophyll a, peroxidase enzymes and ascorbate peroxidase were also identified as effective and significant traits in response to drought stress in the studied areas.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Peroxidase, *Fagus orientalis*, Chlorophyll pigments, Catalase.

* Corresponding author

Tel: +981732427050