



دانشگاه گوارزی منابع طبیعی گرگان

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل

جلد بیستم، شماره چهارم، ۱۳۹۲

<http://jwfst.gau.ac.ir>

## مقایسه عملکرد نشانگرهای ریختی برگ و ایزوآنزیمی پراکسیداز در تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر راش جنگل شصت‌کلاته گرگان

\*محمدباقر محمودی‌زرین‌آبادی<sup>۱</sup>، داوود آزادفر<sup>۲</sup> و زهره سعیدی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

<sup>۲</sup>دانشیار دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

<sup>۳</sup>دانشجوی دکتری دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۱۲

### چکیده

انتخاب و حفظ درختان برتر برای حفاظت و توسعه توده‌های راش شرقی با توجه به بهره‌برداری‌های صورت گرفته و تغییرات اقلیمی، اهمیت بالایی دارد. به این منظور این پژوهش با هدف تفکیک این درختان از سایر درختان غیربرتر در محیط‌های مشابه اکولوژیک به کمک نشانگرهای ایزوآنزیمی پراکسیداز و ریختی برگ صورت گرفت. در مردادماه ۱۳۹۰ نمونه‌های شاخه و برگ از بیرونی‌ترین سطح تاج، در جهت جنوبی و از ارتفاع حدود ۱۰ متری از گروه‌های درختی برتر و غیربرتر موجود در توده راش جنگل شصت‌کلاته گرگان تهیه گردید. مطالعه فعالیت کیفی پراکسیداز به روش PAGE صورت گرفت و ۱۰ صفت ریختی برگ نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج تجزیه و تحلیل الگوی بانندی پراکسیداز بیانگر نمایان شدن ۸ و ۱۱ باند مجزا به ترتیب در اندام‌های شاخه و برگ در ۳ ناحیه متفاوت بر روی ژل بود. با توجه به تعداد گروه‌هایی که تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر در آن‌ها به درستی صورت گرفت، میزان تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر با استفاده از هر دو نشانگر مورد مطالعه مناسب ارزیابی شد اما توانایی تفکیک نشانگر پراکسیداز شاخه و برگ بیش‌تر از نشانگر ریختی برگ بود.

**واژه‌های کلیدی:** مورفولوژی برگ، نشانگر پراکسیداز، اندام، درخت برتر، راش

\*مسئول مکاتبه: [m\\_mahmodi85@yahoo.com](mailto:m_mahmodi85@yahoo.com)

## مقدمه

یکی از مؤلفه‌های مهم در مدیریت جنگل، انتخاب درختان است. انتخاب ممکن است با در نظر گرفتن ویژگی‌های فنوتیپی درخت برای اصلاح جمعیت‌ها و حذف درختان بدفرم بوده و یا براساس سایر ویژگی‌های درخت مانند تولید بالای بذر باشد (صالحی‌شانجانی و همکاران، ۲۰۱۱). به‌طورکلی فنوتیپ یک درخت نتیجه ۳ عامل اصلی است: ۱) خواص ارثی خود درخت، ۲) شرایط اکولوژیک که بر خصوصیات ظاهری و حد رویش درخت تأثیر می‌گذارد و ۳) عامل انسانی که با اجرای عملیات پرورش جنگل، بهره‌برداری و... تغییراتی را در ساختمان توده‌های جنگلی و در نتیجه فرم ظاهری و رویشی درختان به‌وجود می‌آورد. گذشته از این، عواملی مانند سن درخت و وضعیت قرار گرفتن آن در توده جنگلی، نقش مهمی در تغییر شکل ظاهری درخت دارند (میرعبداللهی‌شمسی و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین وجود اختلاف مورفولوژیک و فنولوژیک در بیش‌تر گونه‌ها تنها نمی‌تواند منشاء ژنتیکی داشته باشد (مندال و همکاران، ۲۰۰۰). بررسی‌های بیوشیمیایی و استفاده از آنزیم‌ها می‌تواند به‌عنوان مکمل نشانگرهای ریختی، تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی را با دقت مطمئن‌تری نشان دهد (فلاح و همکاران، ۲۰۱۱). از بین نشانگرهای مورفولوژیک، برگ (اسپهدی و همکاران، ۲۰۰۶؛ جعفری‌صیادی و همکاران، ۲۰۰۶؛ گنجی‌مقدم و طلائی، ۲۰۰۶؛ گودرزی، ۲۰۰۹؛ سعیدی و آزادفر، ۲۰۱۱؛ هریس و همکاران، ۲۰۰۳؛ مارک و ژاکولین، ۲۰۰۳؛ لویز و همکاران، ۲۰۰۴؛ بالیان و همکاران، ۲۰۰۶؛ مارون و همکاران، ۲۰۰۷؛ بایرام‌زاده، ۲۰۱۱) و از میان نشانگرهای بیوشیمیایی نیز آنزیم پراکسیداز در تمایز و طبقه‌بندی ژنتیکی گیاهان، تفکیک اکوتیپ‌ها، بررسی تنوع بین و درون‌گونه‌ای و برآورد تنوع ژنتیکی به‌دلیل تعدد باندها و نیز امکان وضوح باند برای مطالعات ایزوآنزیمی اهمیت خاصی دارند و از تفسیر زیموگرام‌های الکتروفورزی<sup>۱</sup> این آنزیم نیز استفاده‌های فراوانی در این زمینه شده است (علی‌احمد کروری، ۱۹۹۹؛ ذوالفقاری و همکاران، ۲۰۰۷؛ کلاگری و همکاران، ۲۰۰۷؛ ایران‌منش و همکاران، ۲۰۰۹؛ کریمی و آزادفر، ۲۰۱۱؛ بابایی و همکاران، ۲۰۱۰؛ فلاح و همکاران، ۲۰۱۱؛ کمپس و همکاران، ۱۹۹۰؛ کمپس و همکاران، ۱۹۹۸؛ کانرت و همکاران، ۲۰۰۰؛ دنک، ۲۰۰۳؛ ذوالفقاری و همکاران، ۲۰۰۵؛ زارع و همکاران، ۲۰۰۷).

اصلاح درختان جنگلی، کاربرد عملی ژنتیک جنگل است که در برنامه‌های احیا و توسعه جنگل‌ها، اهمیت خاصی دارد. این برنامه‌ها، بر استفاده از بهترین پایه‌ها در جنگل‌های طبیعی به‌عنوان نقطه شروع

1- Electrophoretic Zymogram

استوار بوده (کیانی، ۲۰۰۴) و با انتخاب درختان برتر در توده‌های طبیعی ما را در حداکثر کردن بهره‌وری و افزایش تولید جنگل‌ها یاری می‌رسانند (ذوقی‌نامقی، ۲۰۱۰). درختان برتر معمولاً براساس سیمای ظاهری و ارزیابی صفات مورد علاقه انسان انتخاب می‌شوند (قطور بودن تنه، ارتفاع، قطر، زاویه شاخه‌ها، مقاومت به آفات، وضعیت تاج و...) و زمانی که یک درخت این صفات مطلوب را بیش‌تر از دیگر درختان هم‌سن و سال خود نشان دهد، در این صورت گفته می‌شود دارای فنوتیپ برتر است (کیانی، ۲۰۰۴). گونه راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky) یکی از گونه‌های درختی مهم و صنعتی جنگل‌های شمال ایران محسوب می‌گردد که در چرخه توالی و تکاملی این جنگل‌ها نقش مهمی دارد (رسانه و همکاران، ۲۰۰۱). انتخاب و حفظ درختان برتر راش برای حفاظت و توسعه توده‌های آن با توجه به بهره‌برداری‌های بی‌رویه صورت گرفته و تغییرات اقلیمی، اهمیت بالایی دارد. در بین توده‌های راش جنگل آموزشی پژوهشی شصت‌کلاته گرگان پایه‌هایی از طریق مقایسه ۲۰ صفت کمی و کیفی مورفولوژی درخت (تفکیک فنوتیپی) با درختان اطراف خود، به‌عنوان درختان برتر معرفی شده‌اند (ذوقی‌نامقی، ۲۰۱۰) که اگر این ویژگی‌ها قابل توارث باشند، در برنامه‌های اصلاحی و توسعه توده‌های این گونه با ارزش، برای دستیابی به زادآوری با کمیت و کیفیت بهینه قابل استفاده خواهد بود. از این‌رو این پژوهش با هدف تفکیک این درختان از سایر درختان غیربرتر در محیط‌های مشابه اکولوژیک (تفکیک ژنوتیپی) به کمک نشانگرهای بیوشیمیایی پراکسیداز و ریختی برگ برای مقایسه توانایی نشانگرها صورت گرفته است.

### مواد و روش‌ها

جنگل آموزشی پژوهشی شصت‌کلاته (سری ۱)، واقع در ۱۷ کیلومتری شهرستان گرگان دارای عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۱ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۲۰ دقیقه تا ۵۴ درجه و ۲۴ دقیقه شرقی، اقلیم خزری با تغییرات دمای سالانه کم، جهت دامنه عموماً شمالی با شیب ملایم تا تند، تیپ خاک قهوه‌ای جنگلی دارای منشاء آهکی با گونه‌های جنگلی ممرز، انجیلی و راش به‌صورت آمیخته (ذوقی‌نامقی، ۲۰۱۰) به‌عنوان رویشگاه مورد مطالعه در انجام این پژوهش انتخاب شد. تعداد ۴۰ پایه در قالب ۱۳ گروه با ملاحظه امکان نمونه‌برداری از شاخه و برگ این درختان، برای مقایسه انتخاب شدند. چون بیش‌تر پایه‌ها دارای تنه قطور و بدون شاخه بودند، شرایط برای نمونه‌برداری غیرممکن می‌شد به همین منظور انتخاب این گروه‌ها به‌گونه‌ای صورت

گرفت که در هر گروه، هر پایه برتر حداقل با دو پایه غیربرتر که بتوان از آن‌ها نمونه‌های شاخه و برگ تهیه نمود، مقایسه گردد (تنها در یک گروه تعداد پایه‌های غیربرتر با توجه به فراهم بودن امکان نمونه‌برداری، سه پایه در نظر گرفته شد). این گروه‌ها در ارتفاع ۹۰۰-۶۰۰ متری از سطح دریا که تیپ توده راش خالص و از نظر سنی هم تقریباً هم‌سال است انتخاب گردیدند تا اثر جانبی سایر پایه‌ها (اختلاف سن و آمیختگی) حذف شود، همچنین یکنواختی شرایط محیطی و اکولوژیکی به‌منظور کنترل و به حداقل رساندن اثر محیط در نظر گرفته شده است طوری که فاصله بین پایه‌های برتر و غیربرتر در هر گروه حدود ۲۵ متر در نظر گرفته شد (ذوقی‌نامقی، ۲۰۱۰) که در این فاصله، سهم محیط نسبت به ژنتیک پایه‌ها در بروز تغییرات می‌تواند بسیار ناچیز (حتی شاید قابل اغماض) باشد. در مرحله بعد و به‌منظور بررسی عملکرد دو نشانگر مورد مطالعه (پراکسیداز و مورفولوژی برگ)، در اواخر مرداد سال ۱۳۹۰ نمونه‌برداری از شاخه‌های ۲ ساله و برگ‌های سالم از جهت جنوبی و بیرونی‌ترین سطح تاج و ارتفاع معین از سطح زمین (حدود ۱۰ متر و یکسان برای تمام پایه‌ها) برای انجام مطالعات ایزوآنزیمی پراکسیداز و از ۴ جهت تاج جهت مطالعات مورفولوژیک برگ صورت گرفت (سعیدی و آزادفر، ۲۰۱۱). نمونه‌ها پس از برداشت و کدگذاری بلافاصله به یخدان شامل یخ خشک و سپس به یخچال آزمایشگاه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در مرحله بعد بلافاصله اقدام به اندازه‌گیری ۱۰ صفت ریختی برگ شامل: طول، عرض، محیط، مساحت، ضریب شکل به کمک دستگاه سطح برگ‌سنج<sup>۱</sup> مدل LA-202، ضخامت برگ به کمک کولیس ورنیه با دقت یک‌صدم میلی‌متر، وزن خشک با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت یک‌هزارم گرم، طول دم‌برگ با استفاده از خط‌کش با دقت ۰/۵ میلی‌متر و فاکتور نسبت‌های طول به عرض برگ و طول دم‌برگ به طول برگ شد. لازم به ذکر است که به‌منظور اندازه‌گیری صفت وزن خشک، نمونه‌های برگ به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای ۱۱۰ درجه در دستگاه آون<sup>۲</sup> قرار گرفته‌اند (سعیدی و آزادفر، ۲۰۱۱). برای آسانی در کار و برای معرفی هر پایه درختی از کدهایی استفاده شده است که در آن اولین حرف از چپ بیان‌کننده برتر و غیربرتر بودن پایه موردنظر (P<sup>۳</sup> برتر و N<sup>۴</sup> غیربرتر)، عدد وسط معرف شماره گروه مورد مطالعه و عدد آخر در سمت راست نیز به این معنی است که اگر دارای مقدار صفر باشد به معنی برتر بودن آن

1- Leaf Area Meter

2- Aven Dry

3- Plus

4- Non Plus

پایه درختی است و اگر عددی غیر صفر اختیار کند نشان‌دهنده غیربرتر بودن پایه مورد مطالعه است. به‌عنوان مثال:  $P_{10}$  برتر گروه اول،  $N_{11}$  و  $N_{12}$  غیربرترهای گروه اول هستند.

به‌منظور انجام مطالعات ایزوآنزیمی نیز نمونه‌های برگ و شاخه به روش دستی دستی به‌ترتیب به کمک قیچی معمولی، قیچی باغبانی و هاون به‌صورت کاملاً همگن خرد شده و پس از اضافه کردن محلول عصاره‌گیری (علی‌احمد کروری، ۱۹۸۹)، توسط دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه (به‌مدت ۲۰ دقیقه)، ایزوآنزیم‌ها استخراج و فاز صاف و شفاف رویی آن تا شروع آزمایش‌های کیفی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (علی‌احمد کروری، ۱۹۸۹). مطالعه کیفی آنزیم با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی به روش PAGE<sup>۱</sup> انجام شد (ابرمن و علی‌احمد کروری، ۱۹۹۱).

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های الکتروفورتیکی، ابتدا باندهای ایزوآنزیمی آنزیم پراکسیداز دو اندام شاخه و برگ به‌صورت جداگانه در نرم‌افزار اکسل تصویر شدند و به‌ازای حضور هر باند عدد ۱ و حضور نداشتن آن عدد صفر اختصاص داده شد. همچنین برای تعیین صفات مؤثر از بین صفات اندازه‌گیری شده مورفولوژی برگ در تفکیک درختان برتر و غیربرتر از ضریب پلاستیسیته به روش بروچی و همکاران (۲۰۰۳) طبق رابطه  $P = 1 - \frac{x}{X}$  استفاده گردید که در آن P: پلاستیسیته، x: کم‌ترین مقدار و X: بیش‌ترین مقدار صفت مورد بررسی است. سپس صفات از بیش‌ترین تا کم‌ترین ضریب پلاستیسیته وارد آنالیز خوشه‌ای شدند تا زمانی که مناسب‌ترین حالت تفکیکی بین درختان برتر و غیربرتر مشاهده شود. در این حالت صفاتی که تفکیک بالا را ارایه نمودند به‌عنوان صفات مؤثر در تفکیک معرفی شدند. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای داده‌های الکتروفورتیکی به روش UPGMA و شاخص جاکارد توسط نرم‌افزار NTSYS PC. 2.02e و صفات مورفولوژیک برگ به روش مربع فاصله اقلیدسی و شاخص همبستگی درون‌گروه‌ها در نرم‌افزار SPSS. 16 صورت گرفت (آزادفر، ۲۰۰۹).

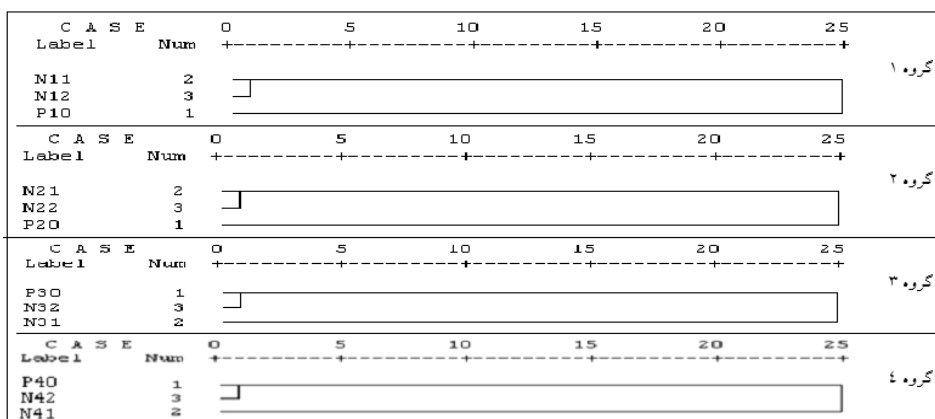
## نتایج

نتایج پلاستیسیته صفات مورفولوژیک برگ راش نشان داد که صفات وزن خشک، مساحت، ضریب شکل، نسبت طول دم‌برگ به طول برگ و محیط برگ به‌ترتیب بالاترین میزان پلاستیسیته را به خود اختصاص داده (جدول ۱) و برای تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر راش شرقی، به‌عنوان صفات مؤثر استفاده شدند طوری که با استفاده از صفات بالا، از بین ۱۳ گروه مورد مطالعه، تفکیک پایه‌های

برتر و غیربرتر در ۸ گروه به‌طور کامل انجام شد، اما در گروه‌های سوم، چهارم، هفتم، دهم و یازدهم به‌درستی صورت نگرفت. دندروگرام‌های مربوط به ۴ گروه اول به‌عنوان نمونه در شکل ۱ نمایش داده شده است و بقیه گروه‌ها برای پرهیز از تکرار مکررات در قالب جدول ارائه گردیدند (جدول ۲).

جدول ۱- میزان پلاستیسیته صفات مورفولوژیک برگ راش.

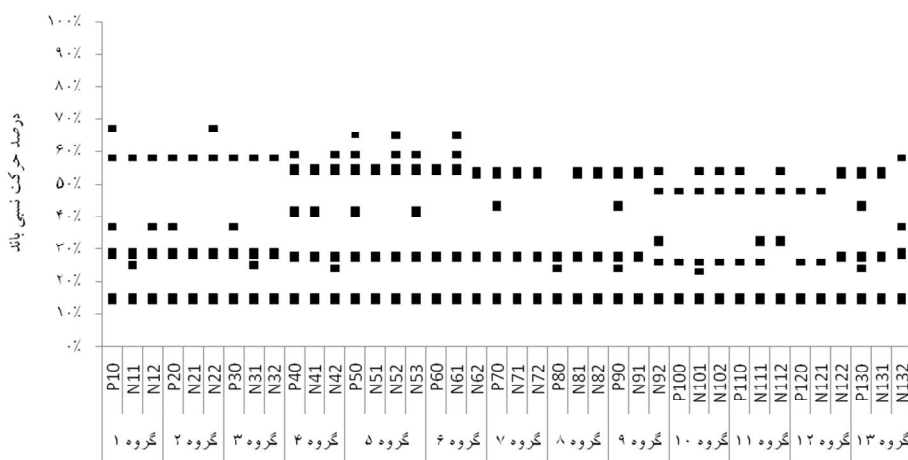
ردیف	صفات مورفولوژیک برگ	میزان پلاستیسیته	ردیف	صفات مورفولوژیک برگ	میزان پلاستیسیته
۱	وزن خشک	۰/۷۰	۶	طول دم‌برگ	۰/۵۴
۲	مساحت	۰/۶۷	۷	ضخامت برگ	۰/۵۰
۳	ضریب شکل	۰/۶۶	۸	عرض برگ	۰/۴۳
۴	طول دم‌برگ به طول برگ	۰/۶۴	۹	طول برگ	۰/۴۱
۵	محیط	۰/۵۴	۱۰	طول به عرض برگ	۰/۳۳



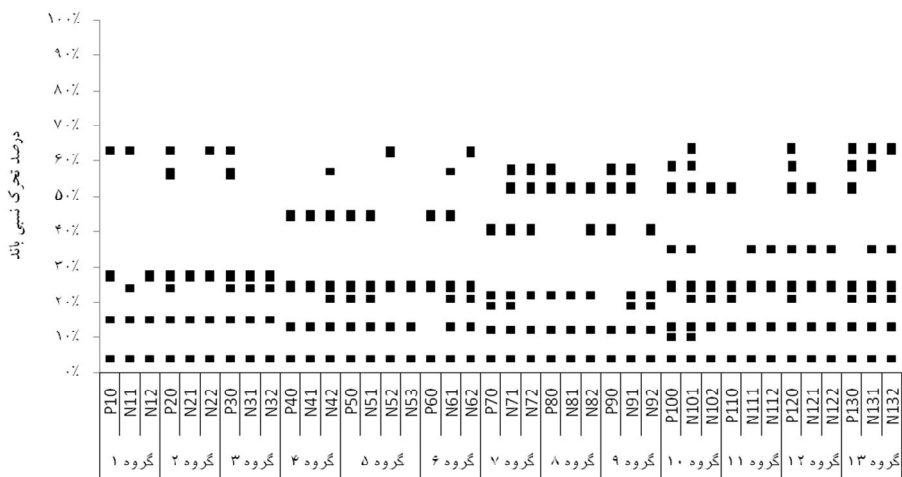
شکل ۱- دندروگرام پایه‌های برتر و غیربرتر در ۴ گروه اول براساس صفات مورفولوژیک برگ.

در بررسی کیفی پراکسیداز در نمونه‌های شاخه در کل ۸ باند مجزا مشاهده شد. باند اول (تحرک نسبی ۱۳ درصد) در تمام پایه‌ها دیده شد که به‌عنوان باند پایه تمامی درختان در نظر گرفته شد. تمرکز باندهای ایزوآنزیمی در تمام پایه‌ها و در هر دو اندام مورد مطالعه در منطقه مولکول‌های سنگین (با حداکثر تحرک نسبی ۳۳ درصد) تا متوسط (تحرک نسبی ۶۶-۳۳ درصد) بوده است و فقط در پایه‌های P<sub>۱</sub> و N<sub>۲۲</sub> در منطقه مولکول‌های سبک (تحرک نسبی بیش از ۶۶ درصد) نیز باند ایزوآنزیمی مشاهده گردید (شکل ۲). در بررسی کیفی پراکسیداز نمونه‌های برگ نیز در مجموع ۱۱ باند مجزا مشاهده

گردید. باند اول (تحرك نسبی ۳ درصد) در تمام پایه‌ها مشاهده گردید که به آن باند پایه فیزیولوژیک می‌گویند. الگوی باندی اندام برگ نسبت به شاخه کاملاً متفاوت بوده است. در این اندام نیز تمرکز بیش‌تر باندها در ناحیه سنگین و متوسط می‌باشد اما فراوانی باندها در ناحیه سبک بیش‌تر از اندام شاخه است به طوری که در پایه‌های  $N_{101}$ ،  $P_{120}$ ،  $P_{130}$ ،  $N_{131}$  و  $N_{132}$  در ناحیه مولکول‌های سبک نیز باند مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۲- زیموگرام ایزوآنزیم‌های پراکسیداز شاخه پایه‌های برتر و غیربرتر در گروه‌های مورد مطالعه.

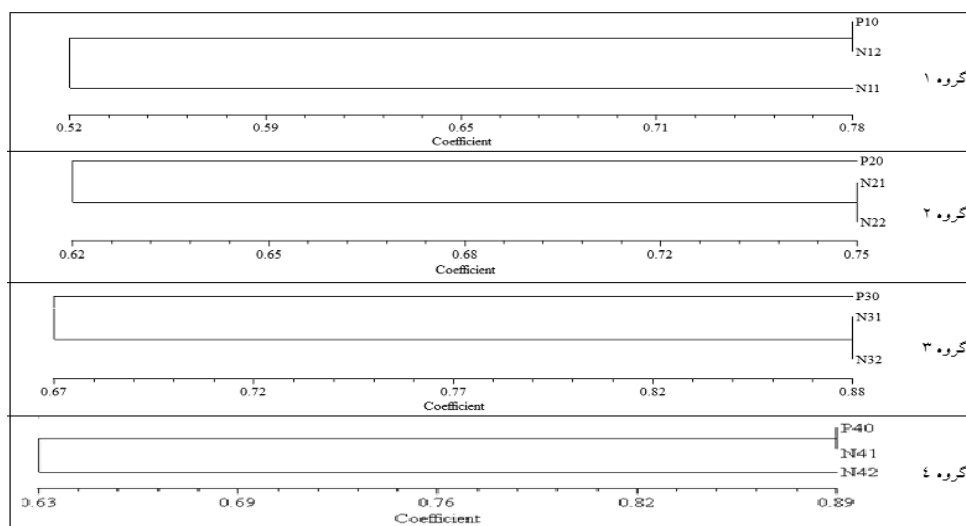


شکل ۳- زیموگرام ایزوآنزیم‌های پراکسیداز برگ پایه‌های برتر و غیربرتر در گروه‌های مورد مطالعه.

نتایج آنالیز خوشه‌ای فعالیت کیفی پراکسیداز در تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر راش شرقی در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که براساس دندروگرام‌های به‌دست آمده از فعالیت کیفی اندام شاخه در ۹ گروه و براساس فعالیت کیفی اندام برگ در ۱۰ گروه به درستی صورت گرفت. در حالت سوم که اثر هر دو اندام با یکدیگر ترکیب شده و در آنالیز خوشه‌ای وارد شدند با تفکیک ۱۱ گروه از ۱۳ گروه مورد مطالعه، بهترین حالت تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر راش شرقی به نمایش در آمده است (جدول ۲) و وضعیت تفکیک این پایه‌ها در ۳ گروه اول براساس ترکیبی از فعالیت کیفی پراکسیداز هر دو اندام شاخه و برگ به‌عنوان نمونه در شکل ۴ نشان داده شده است.

جدول ۲- تعداد گروه‌های تفکیک شده براساس نشانگرهای مورد مطالعه.

سیستم نشانگر	تفکیک شده	تفکیک نشده	کل گروه	درصد تفکیک گروه‌ها
مورفولوژی برگ	۸	۵	۱۳	۶۱/۵ درصد
ایزوآنزیم پراکسیداز	۹	۴	۱۳	۶۹/۲۳ درصد
	شاخه			
پراکسیداز	۱۰	۳	۱۳	۷۶/۹۲ درصد
	برگ			
شاخه و برگ	۱۱	۲	۱۳	۸۴/۶ درصد



شکل ۴- دندروگرام پایه‌های برتر و غیربرتر در ۴ گروه اول براساس فعالیت کیفی پراکسیداز شاخه و برگ.



## بحث

در تعیین کارآترین صفات برای بررسی تنوع مورفولوژیکی با استفاده از ضریب پلاستیسیته، در صورت متغیر بودن شرایط اکولوژیکی و جغرافیایی، صفاتی که کم‌ترین پلاستیسیته را دارند، تحت کنترل ژنتیک پایه‌ها قرار داشته و ژن‌های کنترل‌کننده آن‌ها در پایه‌های مختلف متفاوت خواهند بود (فلاح و همکاران، ۲۰۱۱؛ سعیدی و آزادفر، ۲۰۱۱؛ بروچی و همکاران، ۲۰۰۳) اما زمانی که با وجود تشابه شرایط اکولوژیکی، باز هم در بین پایه‌های یک جمعیت تغییرات زیاد باشد، می‌توان آن را ناشی از تفاوت ژنتیکی پایه‌ها نسبت به یکدیگر دانست (بابایی و همکاران، ۲۰۱۰) در این صورت صفاتی که بالاترین تغییرات (ژنتیکی) را منعکس نمایند یا اصطلاحاً بالاترین پلاستیسیته داشته باشند، صفاتی مؤثر در تمایز جمعیت‌ها هستند. در این پژوهش، با توجه به این‌که درختان برتر و غیربرتر از توده خالص (حذف اثر سایر گونه‌ها) و از طبقات قطری تقریباً برابر انتخاب شدند، همچنین فاصله بین پایه‌ها در هر گروه حدود ۲۵ متر در نظر گرفته شد که در این فواصل شرایط فیزیوگرافی گروه‌ها (شیب، جهت و ارتفاع از سطح دریا) یکسان است (ذوقی‌نامقی، ۲۰۱۰)، شرایط تا حد بالایی یکنواخت و اثر محیط نیز تقریباً حذف شده است. بنابراین با وجود یکنواختی و یکسان‌سازی تغییرات محیطی، تغییرات موجود بین پایه‌ها می‌تواند بیش‌تر ناشی از خصوصیات ژنتیکی این پایه‌ها باشد تا شرایط محیطی. بر همین اساس در ضریب پلاستیسیته محاسبه شده نیز صفاتی که بالاترین تغییرات (پلاستیسیته) را نشان دادند در واقع بیش‌ترین تغییرات ناشی از اثر ژنتیک پایه‌ها را منعکس می‌کنند و تفکیک آرایه شده بیش‌تر متأثر از این امر است. طبق نتایج این پژوهش، صفات وزن خشک، مساحت، ضریب شکل، نسبت طول دم‌برگ به طول برگ و محیط با انعکاس بیش‌ترین تغییرات، به‌عنوان صفات مؤثر در تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر راش شرقی از اهمیت بالایی برخوردار بودند که توانستند در بیش از ۶۱ درصد گروه‌ها، عمل تفکیک را با موفقیت انجام دهند و در مورد گروه‌هایی که تفکیک دقیق در آن‌ها صورت نگرفت، با توجه به نتایج امتیازدهی درختان در پژوهش ذوقی‌نامقی (۲۰۱۰) مشاهده شد که امتیاز درختان برتر و غیربرتر در این گروه‌ها بسیار نزدیک به هم بوده که احتمالاً در نتایج این پژوهش تأثیر گذاشته است. بنابراین با توجه به اصل ارزان، ساده و سریع بودن این تکنیک، اهمیت این صفات بیش از پیش مشخص می‌شود.

ایزوپروتئین‌ها و ایزوآنزیم‌ها حساس‌ترین عامل برای جداسازی و تفکیک تاکسونومی گیاهان محسوب می‌شوند و مثل اثر انگشت معرف شناسایی جنس، گونه و زیر گونه هستند (مندال و

همکاران، ۲۰۰۰) و پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌ها در سیر تحولات فیزیولوژیک گیاهان است که در پژوهش‌های بسیاری تفسیر زیموگرام‌های الکتروفورزی آن مبنای طبقه‌بندی ژنتیکی در گیاهان قرار داده شده است (کلاگری و همکاران، ۲۰۰۷؛ مندال و همکاران، ۲۰۰۰؛ بابایی و همکاران، ۲۰۱۰؛ فلاح و همکاران، ۲۰۱۱؛ کانرت و همکاران، ۲۰۰۰؛ دنک، ۲۰۰۳). استفاده از فعالیت کیفی پراکسیداز در این پژوهش نشان داد که حضور و حضور نداشتن باندها با فراوانی مختلف و الگوهای ایزوآنزیمی متفاوت بین پایه‌های برتر و غیربرتر راش شرقی باعث تفکیک این پایه‌ها از یکدیگر شده است. باندهای دارای تحرک نسبی ۳ درصد در اندام برگ (شکل ۳) و ۱۳ درصد در اندام شاخه (شکل ۲)، در تمام پایه‌ها از جمله برتر و غیربرتر مشاهده شدند که به‌عنوان باندهای پایه فیزیولوژیک نامیده شدند. حضور این باندها در تفکیک این پایه‌ها نقشی نداشته و حتی باعث شباهت و نزدیکی پایه‌های نام برده بوده و به‌عنوان باندهای بی‌اثر عمل می‌کنند. اما وجود باندهای شاخص در این پایه‌ها، به‌خصوص باندهای ظاهر شده در منطقه مولکول‌های سبک (تحرک نسبی بیشتر از ۶۶ درصد)، برای این منظور اهمیت ویژه‌ای دارند که مطابق شکل ۲، پایه‌های  $P_{10}$  و  $N_{22}$  و طبق شکل ۳، پایه‌های  $N_{101}$ ،  $P_{120}$  دارای این گونه باندها هستند اما در پایه‌های  $P_{130}$ ،  $N_{131}$  و  $N_{132}$  بر خلاف ظهور باند در منطقه سبک و تمایز پایه‌های این گروه نسبت به سایر گروه‌ها، باعث تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر از یکدیگر در این گروه نشد.

به‌طورکلی نتایج تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر راش شرقی براساس تجزیه خوشه‌ای نشان داد که هر دو نشانگر در تفکیک این پایه‌ها عملکرد مناسبی دارند و توانستند در بیش از ۶۱ درصد گروه‌ها، پایه‌های برتر را از سایر پایه‌ها تفکیک نمایند. اما نشانگر پراکسیداز کارایی بالاتری نسبت به نشانگر مورفولوژیک برگ نشان داد. قسمت‌های مختلف گیاه دارای الگوهای پروتئینی ثابت نیستند بلکه هر اندام گیاه دارای الگوی خاص خود است که این الگو می‌تواند معرف سیستم فیزیولوژیک آن قسمت از گیاه باشد (علی‌احمد کروری، ۱۹۹۹). مطابق یافته‌های این پژوهش نیز الگوهای پروتئینی اندام شاخه و برگ با یکدیگر متفاوت بوده است. هر چند بهترین عملکرد برای تفکیک پایه‌های برتر و غیربرتر در این مطالعه از ترکیب نتایج هر دو اندام شاخه و برگ به‌دست آمد، اما اندام برگ با نمایش باند و پلی‌مورفیسم بالاتر نسبت به اندام شاخه در مطالعه هم‌زمان، عملکرد مطلوب‌تری نشان داد که این امر با نتایج سایر پژوهش‌گران هماهنگ نبود (علی‌احمد کروری، ۱۹۹۹؛ ایران‌منش و همکاران، ۲۰۰۹؛ کریمی و آزادفر، ۲۰۱۱). علت این موضوع را می‌توان به فصل نمونه‌برداری نسبت داد چون اندام برگ در فصل رویش و اندام شاخه در فصل خزان و سرما دارای بیش‌ترین میزان پلی‌مورفیسم هستند (علی‌احمد کروری، ۱۹۹۹).

با توجه به آن که در این پژوهش برای یکنواختی کار مقایسه، نمونه برداری در فصل تابستان (اواخر مرداد) از هر دو اندام صورت گرفت، چنین نتیجه‌ای به دست آمد. در نهایت باید خاطر نشان کرد که نشانگر مورفولوژیک برگ نسبت به سایر نشانگرهای ژنتیکی، دارای تکنیک ساده‌تر، سریع‌تر و ارزان‌تر است و در مقابل، نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز دارای هزینه بیشتر ولی دقت بالاتر نسبت به نشانگر مورفولوژیک است. بنابراین بر حسب نیاز اطلاعاتی از نظر وسعت کار، میزان دقت و هزینه می‌توان از یکی از دو نشانگر یا ترکیبی از هر دو بهره برد تا بتوان با دقت بالاتر تفکیک ژنوتیپی پایه‌های برتر را از غیربرتر انجام داد که در این صورت می‌توان اطمینان بیشتری به انتقال صفات مطلوب با پرورش ارقام برتر نسبت به سایر پایه‌ها از طریق تجدید حیات طبیعی یا جریان ژنی توسط گرده داشت که به‌طور حتم در توسعه توده‌های جنگلی این گونه مؤثر خواهد بود.

#### منابع

1. Ali Ahmad Korori, S. 1999. Investigation on responses of Forest trees enzymes to alteration of environmental factors. Research Institute of Forests and Rangelands Press, 333p.
2. Azadfar, D. 2009. Evaluation and comparison of qualitative and quantitative activities of peroxidase enzyme in various organs of *Sorbus torminalis* species. Journal of Genetic and Modification of Pasture and Sylvan Plants of Iran, 17: 1. 155-165.
3. Babaie, F., Jalali, S.G. and Azadfar, D. 2010. Genetic variation investigation on *Zelkova carpinifolia*, from three Iranian north lowland habitats using leaf peroxidase. Iran. J. Range. For. Plant Breed. Gen. Res. 18: 1. 83-92. (In Persian)
4. Ballian, D., Kajba, D. and Idzajt, M. 2006. Morphological diversity of hairy European lack Poplar (*Populus nigra* sub sp. caudina) in Bosnia and Herzegovina, 6: 5. 13-22.
5. Bayramzadeh, V. 2011. Variation of leaf morphological traits in natural populations of *Fagus orientalis* Lipsky in the Caspian forests of Northern Iran. Annals of Forest Research, 54: 2. 1-9.
6. Bruschi, P., Grossoni, P. and Bussotti, F. 2003. Within and among tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Lieble. natural populations. Tree, 17: 164-172.
7. Comps, B., Thiebaut, B., Paule, L., Merzeau, D. and Letouzey, J. 1990. Allozymic variability in Beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. Heredity 65, the Genetical Society of Great Britain, Pp: 407-417.

8. Comps, B., Matayas, C., Letouzey, J. and Geburek, T. 1998. Genetic variation in Beech populations (*Fagus sylvatica* L.) along the Alpine Chain and in the Hungarian Basin. *Forest Genetic*, 5: 1. 1-9.
9. Connert, M., Ziehe, M., Trober, U. and Maurer, W. 2000. Genetic variation of Beech (*Fagus sylvatica* L.) in Germany: joint evaluation of genetic inventories from several Federal States, *Forest and Holz*, 55: 13. 403-408.
10. Denk, T. 2003. Phylogeny of *Fagus* L. (*Fagaceae*) based on morphological data. *Plant Systematics and Evolution*. Printed in Austria, Pp: 240: 55-81.
11. Eberman, R. and Korori, S.A.A. 1991. Temperature dependent alternation of peroxidase and amylase isoenzymes in *Quercus Robur*. *Phyton*, 31: 121-128.
12. Espahbodi, K., Mirzaiee Nadoushan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan Shooraki, Y. 2006. Investigation of genetic variation of wild service (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz), using morphological analysis of fruits and leaves. *Pajouhesh and Sazandegi*, 72: 44-57. (In Persian)
13. Fallah, H., Tabari, M. and Azadfar, D. 2011. Determination ecotypes of *Populus caspica* Bornm. in plain communities of Caspian forests using morphological markers of leaf and peroxidase isoenzymes. *Taxonomy and Biosystematics*, 3: 6. 47-58. (In Persian)
14. Ganji Moghadam, E. and Talaii, A. 2006. Investigation on genetic diversity in Mahleb (*Prunus Mahleb* L.) population using morphological characters. *Seed Plant J.* 22: 1. 29-34. (In Persian)
15. Godarzi, N. 2009. The effect of altitude on morphological and anatomical eastern beech leaves (*Fagus orientalis* L.). M.Sc. Thesis. Tehran University, 95p. (In Persian)
16. Harris, P.J.C., Pasiecznik, N.M., Smitha, S.J., Billingtona, J.M. and Rami, L. 2003. Differentiation of *Prosopis juliflora* (Sw). *Forest Ecology and Management*, 180: 153-164.
17. Iranmanesh, Y., Ali Ahmad Korori, S., Espahbodi, K. and Azadfar, D. 2009. Comparison of qualitative and quantitative activities of peroxidase in different organs of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. *Iran. J. Range. For. Plant Breed. Gen. Res.* 17: 1. 155-165. (In Persian)
18. Jafari Sayadi, M.H., Marvi Mohajer, M.R., Mozaffari, J. and Sobhani, H. 2006. Morphological Leaf characteristics of Persian walnut (*Juglans regia* L.) in Iranian population. *Iran. J. For. Pop. Res.* 14: 1. 1-19. (In Persian)
19. Kalagari, M., Jafari Mofidabadi, A., Tabari, M. and Hoseini, S.M. 2007. Genetical variation on natural populations of *Populus euphratica* Oliv. by peroxidase isoenzyme. *Iran. J. For. Pop. Res.* 15: 2. 115-122. (In Persian)
20. Karimi, L. and Azadfar, D. 2011. Consideration and comparison of genetic diversity of English yew species (*Taxus baccata* L.) by using branch and leaf peroxidase. *Iran. J. Range. For. Plant Breed. Gen. Res.* 18: 2. 227-238. (In Persian)

21. Kiani, B. 2004. Forest Genetics (improvement of tree and stand). Haghshenas Publication, 214p.
22. Korori, S.A.A. 1989. Dissertationsarbeit Zur Eelangung des Dokorgrades and der Universtat fer Bodenkult in Wien Eingereicht Von Frou Dipl. Ing.
23. Lopez, D.H., Sierra, U.R. and Cristobal, M.D. 2004. A comparison of isozyme and morphological markers to assess the within population variation in small populations of European aspen (*Populus tremula* L.) in Spain. *Silvae Genetica*, 53: 5-6. 227-233.
24. Mandal, A.B., Maiti, A., Chowdhury, B. and Elanchezhian, R. 2000. Isozyme markers in varietal identification of Banana. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 37: 599-604.
25. Mark, J.H. and Jacqueline, K.V.S. 2003. Nature vs nurture in the leaf morphology of Southern beech, *Nothofagus cunninghamii* (*Nothofagaceae*), *New Phytologist*, 161: 585-594.
26. Marron, N., Dillen, S.Y. and Ceulemans, R. 2007. Evaluation of leaf traits for indirect selection of high yielding poplar hybrids. *Environmental and Experimental Botany*, 61: 103-116.
27. Mirabdollahi Shamsi, M., Bonyad, A.E., Torkaman, J. and Bakhshandeh, B. Study on tree form of Oriental Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) in different growth stages (Case study: Lomir forest). *Iran. J. For.* 3: 3. 177-187. (In Persian)
28. Resaneh, Y., Kahnemoui, M.H. and Salehi Shanjani, P. 2001. Qualitative and quantitative study of northern forests of Iran. National conference of northern forests management and sustainable development, 1: 56-82. (In Persian)
29. Saeidi, Z. and Azadfar, D. 2011. Leaf morphological diversity in three different Poplar clones. *Iran. J. For. Pop. Res.* 19: 1. 104-118. (In Persian)
30. Salehi Shanjani, P., Vendramin, G.G. and Calagari, M. 2011. Effects of artificial selection on genetic structure of beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations. *Iran. J. Range. For. Plant Breed. Gen. Res.* 18: 2. 165-180. (In Persian)
31. Zarre, S., Khodaei, Z., Karamali, Z., Nikname, V. and Mirmasoumi M. 2007. Isoenzyme variation patterns and species concept in *Astragalus gossypinus* and *Astragalus persicus* complexes (*Fabaceae*) in Iran. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35: 757-763.
32. Zoghi Nameghi, Z. 2010. Identification of *Fagus orientalis* plus trees in Shast Kalateh forest. M.Sc. Thesis. Gorgan university of Agricultural sciences and Natural Resources, 111p.
33. Zolfaghari, R., Ali Ahmad Korori, 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: 3-4. 305-311.
34. Zolfaghari, R., Ali Ahmad Korori, S. and Etemad, V. 2007. Using Peroxidase and Catalase enzymes for identification of cold resistant individuals in Iranian Beech (*Fagus orientalis* Lipsky). *J. Iran. Natur. Resour.* 60: 1. 67-76.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Wood & Forest Science and Technology*, Vol. 20 (4), 2014  
<http://jwfst.gau.ac.ir>

## **Comparison of the efficiency of leaf morphological and Peroxidase isozyme markers in segregation of *Fagus orientalis* Lipsky plus and none-plus trees in Shastkalateh forest-Gorgan**

**\*M.B. Mahmoodi Zarinabadi<sup>1</sup>, D. Azadfar<sup>2</sup> and Z. Saeedi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>M.Sc. Graduate, Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>2</sup>Associate Prof., Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>3</sup>Ph.D. Student, Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

Received: 12/09/2012; Accepted: 12/03/2013

### **Abstract**

Exploitation and climate change factors affected on beech trees (*Fagus orientalis* L.) so, selection and preservation of plus trees is very important for the protecting and improving of the beech stands. In order to this goal, this study was done separation of plus and none-plus trees in the same ecological conditions by peroxidase isozyme and leaf morphological markers. In July 2011, the leaf and branch samples were collected from outer layers of crown. All the materials were sampled from south aspect of plus and none plus tree (at the same height- about 10 meters) groups of beech stands in Shast Kalate forest of Gorgan. The qualitative activity of peroxidase was assessed by PAGE method. Also for investigation of leaf morphology, 10 leaf morphological traits were measured. Peroxidase banding pattern showed 8 and 11 bands in branch and leaf organs respectively, in three zones of polyacrilamide gel. The both markers showed an acceptable efficiency for separation of plus and none plus trees. Although results of the used markers were in line together, ability of leave and branch Peroxidase isozyme were better than leaf morphology marker.

**Keywords:** Leaf morphology, Peroxidase marker, Organ, Plus tree, Beech

---

\* Corresponding Author; Email: m\_mahmodi85@yahoo.com