

## سازکارهای آنزیمی ضد اکسایشی در برخی پایه‌های بذری و همگروه تجاری گلابی در واکنش به تنش کسر آبیاری

### Enzymatic Anti-oxidative Mechanisms in Some Seedling and Clonal Commercial Pear Rootstocks in Response to Deficit Irrigation Stress

مجید ظهوری<sup>۱</sup> و حمید عبداللهی<sup>۲\*</sup>

۱- پژوهشگر، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.  
۲- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵

#### چکیده

ظهوری، م. و عبداللهی، ح. ۱۴۰۱. سازکارهای آنزیمی ضد اکسایشی در برخی پایه‌های بذری و همگروه تجاری گلابی در واکنش به تنش کسر آبیاری. *مجله نهال و بذر* ۳۸: ۲۲۲-۲۰۵.

تحمل به تنش کسر آبیاری و سازکارهای مرتبط با آن از خصوصیات مهم در پایه‌های بذری و همگروه گلابی می باشد که تعیین کننده میزان موفقیت استفاده از این پایه ها در سطح تجاری است. بر این اساس، در پژوهش حاضر به موازات بررسی تحمل پایه‌های بذری درگزی و *Pyrus betulifolia* Bunge و پایه‌های همگروه پیروودارف، OH×F69 و OH×F87 به تنش کسر آبیاری، برخی از سازکارهای آنزیمی ضد اکسایشی آنها در واکنش به این تنش در شرایط گلخانه ای در سال ۱۳۹۷ در گلخانه پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی در کرج بررسی و مقایسه شد. تنش کسر آبیاری در سه سطح بدون تنش، تنش ملایم و نسبتاً شدید به صورت آبیاری در ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در شرایط گلخانه‌ای طی ۶۰ روز اعمال شد. ارتفاع پایه، تولید گونه فعال اکسیژن پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و در پی آن نشت یونی و فعالیت سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POX) در دو مرحله ۳۰ و ۶۰ روز از آغاز تنش، در پایه‌ها اندازه گیری و بررسی شد. نتایج بیانگر تحمل بیشتر پایه پیروودارف به تنش کسر آبیاری حتی در شرایط تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در مقایسه با دیگر پایه‌ها بود. تولید پراکسید هیدروژن در بافت تازه بین ۲۳/۷ میکرومول در گرم در پایه OH×F87 تا ۳۲/۵ میکرومول در گرم در پایه *P. betulifolia* Bunge متفاوت بود. با افزایش شدت و مدت تنش، تولید پراکسید هیدروژن در بافت تازه به مقدار حد اکثری ۸۱/۳ میکرومول در گرم افزایش یافت که با نشت یونی همبستگی معنی‌دار ( $r = 0.734^{**}$ ) در سطح احتمال یک درصد داشت. همچنین ضرایب همبستگی حاصل، موید ترتیب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و سپس کاتالاز در پاسخ به افزایش شدت تنش کسر آبیاری در پایه‌ها بود. بر اساس نتایج این پژوهش، بخشی از سازکار تحمل به تنش کسر آبیاری در پایه‌های گلابی از طریق تبدیل سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و سپس جلوگیری از تجمع آن می باشد.

واژه های کلیدی: گلابی، تنش اکسایشی، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن.

## مقدمه

نیز به طور محدود در برخی کشورها برای تولید نهال گلابی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Westwood, 1993). از این جمله گونه *P. pashia* D. Don. در هند و جنوب غربی چین، *P. amygdaliformis* Vill. در یوگسلاوی سابق، ترکیه و یونان، *P. kawakamii* Hayata در تایوان، *P. ussuriensis* Maxim. در شمال شرقی چین، *P. syriaca* Boiss. در سوریه و لبنان و *P. longipes* Coss. & Dur. در الجزایر و مراکش قابل ذکر هستند. بر اساس گزارش بل (Bell, 1991)، گونه گلابی *P. betulifolia* از جمله متحمل‌ترین گونه‌های جنس گلابی برای تحمل به خشکی بوده و سایر گونه‌ها نظیر *P. amygdaliformis* و *P. syriaca* نیز تحمل بالایی به تنش خشکی دارند.

بررسی‌های میدانی نشان داده است که علی‌رغم تحمل بالای گونه‌های *P. amygdaliformis* و *P. syriaca* به تنش خشکی، ظاهراً این گونه‌ها پتانسیل بالایی برای کاربرد تجاری به عنوان پایه ندارند، و استفاده از بذر آنها برای تولید نهال بذری در نهالستان‌های کشور چندان مورد استقبال قرار نگرفته است (Abdollahi, 2010). این در حالی است که گونه‌های *P. betulifolia* و *P. calleryana* از پتانسیل بالاتری نسبت به دو گونه ذکر شده برای کاربرد تجاری به عنوان پایه برخوردار هستند و تحمل به خشکی بالایی نیز در گونه *P. betulifolia* گزارش شده است.

درخت گلابی از نظر اهمیت پس از سیب مهمترین درخت میوه‌دانه‌دار است (FAO, 2019) و در مقایسه با دیگر درختان میوه‌دانه‌دار به‌ویژه درخت سیب و همچنین سایر درختان میوه‌هسته‌دار نظیر درختان گیلاس، آلو و زردآلو، هلو و شلیل، تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی و کسر آبیاری دارد (Lombard and Westwood, 1987). از سوی دیگر تحمل به خشکی تا حد زیادی به پتانسیل ژنتیکی پایه مورد استفاده بستگی دارد و تفاوت قابل توجهی بین گونه‌های مختلف جنس *Pyrus*، در تحمل به این تنش گزارش شده است (Bell, 1991).

همچنین در بین گونه‌های مختلف جنس گلابی، سازگاری بالایی از نظر پیوند مشاهده شده است و بر خلاف درخت سیب، تقریباً کلیه ارقام گلابی، با پیوند روی گونه‌های جنس *Pyrus* قابلیت تبدیل شدن به درخت کامل و بارور را دارا می‌باشند. در این بین نکته کلیدی، پتانسیل تجاری و کاربرد گونه گلابی به عنوان پایه است که در این مورد تفاوت قابل توجهی بین گونه‌های جنس *Pyrus* مشاهده شده است (Abdollahi, 2010).

مهمترین گونه‌های جنس *Pyrus* که تاکنون به عنوان پایه برای ارقام تجاری گلابی مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل گونه‌های *P. betulifolia*، *P. communis* L.، *P. calleryana* می‌باشند و البته سایر گونه‌ها

تنش‌های غیرزنده، از طریق بازدارندگی فرآیند انتقال الکترون، سبب تولید گونه‌های مختلف اکسیژن فعال شد. فعالیت‌های آنزیمی ضد اکسایشی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها، در کنار برخی ساختارهای ضد اکسایشی غیر آنزیمی نظیر فنل‌ها، توکوفرول و کاروتنوئیدها سبب تعدیل و کاهش اثرات مخرب تنش غیرزنده روی بافت‌ها در اثر میزان بالای گونه‌های اکسیژن فعال خواهد شد (Henzler and Steudle, 2004; Alischer *et al.*, 2002).

برخی پژوهشگران نشان داده اند که تولید گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین آنزیم‌های ضد اکسایشی مرتبط با آنها در تحمل به تنش‌های زنده در گلابی به ویژه بیماری آتشک نقش موثر و تعیین کننده‌ای داشت (Hassani *et al.*, 2016; Azarabadi *et al.*, 2017). بر خلاف تحقیقات انجام گرفته در رابطه با تنش‌های زنده در درخت گلابی، یافته‌های محدودی در رابطه با نقش گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین سازکارهای ضد اکسایشی مرتبط با آنها در تحمل به تنش‌های غیر زنده با تاکید بر تنش خشکی در این گونه وجود دارد. بنابراین، با توجه به وجود طیف گسترده‌ای از پایه‌های رویشی در کشور و همچنین امکان مقایسه آنها با گونه متحمل به خشکی *P. betulifolia* Bunge لازم است پژوهش‌هایی در این زمینه انجام شود.

هدف این پژوهش مقایسه تحمل به تنش کسر آبیاری برخی پایه‌های بذری و رویشی گلابی در

ارزیابی تاثیر کاربرد گونه‌های مختلف گلابی روی تحمل به خشکی و در عین حال کیفیت میوه، نشان داده است که پایه ژاپنی نیجیسیکی (Nijisseiki) دارای تحمل مطلوب به خشکی بوده است و این ویژگی از میزان بالای مواد اسمزی در سلول‌های بافت‌های آن ناشی می‌شود (Tamura, 2012). در بررسی دیگری روی سازکار مقاومت به خشکی در گلابی، حساسیت کمتر به اسید آبسزیک تولید شده در برگ، به عنوان سازکار مهم در تحمل به خشکی در ژنوتیپ متحمل تر گزارش شده است (Wang *et al.*, 2018). لی و همکاران (Li *et al.*, 2016) بیان کردند که علاوه بر تاثیر اسید آبسزیک در تحمل به خشکی در گلابی، اسید جیبرلیک نیز به عنوان یک هورمون گیاهی در سازکارهای تحمل به خشکی این گونه تاثیر گذار است.

علاوه بر تاثیر هورمون‌های گیاهی در تحمل به خشکی گلابی، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آنزیم‌های ضد اکسایشی در گیاه در مقابل آنها از سازکارهای بسیار مهم و موثر در تحمل به تنش خشکی در گیاهان است (Henzler and Steudle, 2004). از سوی دیگر، فعالیت بالاتر و بیشتر آنزیم‌های ضد اکسایشی بافت‌های گیاهی، سبب تحمل بیشتر و موثرتر آنها به تنش‌های غیرزنده از جمله تنش خشکی می‌شود (Alischer *et al.*, 2002). به این دلیل که

OH×F87 Daytor و پیروودوارف عاری از ویروس از پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی تهیه و با روش عبداللهی و همکاران (Abdollahi et al., 2005) ازدیاد همگروه شدند.

بررسی‌ها در سال ۱۳۹۷ در گلخانه پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی در کرج انجام شد.

### اعمال تنش کسر آبیاری

به منظور اعمال سطوح کسر آبیاری، پایه‌های ازدیاد شده با ارتفاع تقریبی ۴۰ تا ۵۰ سانتی‌متر و با قطر حدود یک سانتی‌متر در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی با ترکیب مساوی خاک، ماسه و کوددامی پوسیده از اواسط تیر سال ۱۳۹۷ کاشت و استقرار یافتند. در هر گلدان سه گیاه از هر پایه بود و هر تیمار آزمایشی در سه تکرار انجام شد. میانگین دمای روزانه گلخانه محل استقرار پایه‌ها  $28 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و طول دوره نوری در مرداد و شهریور و بدون استفاده از نور تکمیلی در نظر گرفته شد.

پس از استقرار پایه‌ها در خاک گلدان‌ها، در تیر سال ۱۳۹۷، اعمال سطوح تنش کسر آبیاری: ۵۰ درصد (تنش نسبتاً شدید) و ۷۵ درصد (تنش ملایم) ظرفیت مزرعه (Field capacity = FC) در کنار شاهد بدون تنش رطوبتی (آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) انجام شد. به منظور اعمال تیمارهای کسر آبیاری، از روش وزنی استفاده شد. پس از توزین گلدان‌ها در شرایط آبیاری کامل (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و خروج آب

شرایط گلخانه، ارزیابی تولید پراکسید هیدروژن به عنوان مهم‌ترین و موثرترین گونه فعال اکسیژن تولیدی در گیاه در واکنش به تنش خشکی، و همچنین مقایسه فعالیت و تاثیر سه آنزیم ضد اکسایشی مرتبط شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POX) در این شرایط بود.

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی و تکثیر

پایه‌های مورد استفاده در این پژوهش شش پایه گلابی شامل: پایه بذری درگزی از گونه *P. communis* L. و پایه بذری *P. betulifolia* Bunge. در کنار سه پایه رویشی OH×F69 Daynir، OH×F87 Daytor و پیروودوارف (Pyrodwarf) بودند.

به منظور اجتناب از تداخل عادت رشد انواع پایه بذری و پایه‌های همگروه و همچنین پرهیز از تنوع ژنتیکی در تکرارهای مختلف پایه‌های بذری، در رابطه با دو پایه بذری درگزی و *P. betulifolia* یک پایه انتخاب و به صورت رویشی و با استفاده از روش تکثیر درون شیشه ارائه شده توسط عبداللهی و همکاران (Abdollahi et al., 2005) برای پایه درگزی و منصوریار و همکاران (Mansuryar et al., 2016) برای پایه *P. betulifolia* در سال ۱۳۹۷ ازدیاد همگروه شدند

پایه‌های رویشی نیمه پاکوتاه کننده OH×F69 Daynir با نام تجاری معادل Farold® 69

اسید کلرواستیک یک درصد عصاره گیری شدند. عصاره حاصل به مدت پنج دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سپس به یک میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده هر نمونه پنج میلی لیتر اسید تری کلرو استیک ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربتوریک بود، اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت.

پس از ۳۰ دقیقه لوله ها از حمام خارج شد و پس از سرد شدن دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. غلظت مالون دی آلدئید با اندازه گیری میزان جذب در طول موج ۵۳۲ خوانده شد. برای محاسبه غلظت مالون دی آلدئید از ضریب خاموشی معادل استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن تر با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$C \times 1000 = (A532 - A600) / \text{غلظت مالون دی آلدئید}$$
  
 در این رابطه ضریب خاموشی (C)،  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  در نظر گرفته شد.

غلظت پراکسید هیدروژن بر اساس واکنش آب اکسیژنه  $\text{H}_2\text{O}_2$  با یدید پتاسیم (KI) و با روش آلکسیوا و همکاران (Alexieva et al., 2001) اندازه گیری شد. در این روش ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاه در اسید تری کلرواستیک یک درصد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی مولار

اضافی، روزانه گلدانها توزین و میزان آب لازم در تیمارهای کسر آبیاری پس از رسیدن به ظرفیت مزرعه مورد نظر، اضافه شد.

ارزیابی های شامل ارزیابی شاخص های رشد و صفات فیزیولوژیک بر روی پایه های در شرایط تنش در طی بازه زمانی ۶۰ روزه پس از آغاز تنش کسر آبیاری بود. به این منظور، شاخص رشد به صورت اندازه گیری ارتفاع پایه ها در دوره های زمانی صفر (مرحله آغاز تنش) و سپس ۳۰ و ۶۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات فیزیولوژیک مورد بررسی شامل: میزان نشت یونی غشاء سلولی پایه ها بود که در دوره های زمانی ۳۰ و ۶۰ روز پس از آغاز تنش، در نمونه های برگ کیله پایه ها و کیله سطوح آبیاری در تکرارهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای نمونه برداری برگ، تعداد ۲۰ برگ در دوره مذکور از بخش های مختلف شاخه ها به غیر از برگ های بسیار جوان و توسعه نیافته نمونه برداری شد و بلافاصله جهت نگهداری در دمای ۶۴- درجه سانتی گراد تا زمان انجام ارزیابی ها نگهداری شدند. ارزیابی ها در یک دوره زمانی سه ماهه از نمونه برداری انجام شد.

### صفات فیزیولوژیک

میزان نشت یونی بر اساس هدایت الکتریکی (Electrical conductivity = EC) توسط دستگاه EC متر (Walk Lab مدل Trans Instruments) اندازه گیری شد. نمونه های منجمد به مقدار ۰/۲ گرم در پنج میلی لیتر تری

کاهش غلظت آب اکسیژنه ( $H_2O_2$ ) است، هر ۱۰ ثانیه و به مدت ۱۲۰ ثانیه انجام شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) اندازه گیری شد. اساس این روش، بر کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ نانومتر استوار است که ناشی از اکسیده شدن آسکوربات در طی فرآیند ارزیابی می باشد. در این روش، ثبت تغییرات جذب نور نمونه در طول موج ۲۹۰ نانومتر که بیانگر میزان اکسیداسیون و کاهش غلظت آسکوربات است، هر ۱۰ ثانیه و به مدت ۱۲۰ ثانیه انجام شد.

#### طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل های آماری

در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل در قالب بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار استفاده شد. تعداد پنج گلدان یکنواخت در هر کرت آزمایش وجود داشت. عوامل مورد بررسی شامل دو عامل: انواع مختلف پایه در پنج سطح و کسر آبیاری در سه سطح بود. نمونه برداری ها در دو دوره ۳۰ و ۶۰ روزه پس از اعمال تنش کسر آبیاری انجام شد. داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار اکسل (Microsoft-Excel Version 2013) گردآوری و تنظیم و تدوین شد. سپس تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار سیگماپلات (SigmaPlot, Sigma, Version 12.5) انجام و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل ترسیم گردید.

( $pH = 7$ ) و دو میلی لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. مخلوط حاصل پس از یک ساعت نگهداری در تاریکی و جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه غلظت پراکسید هیدروژن از منحنی استاندارد استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد غلظت های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۰۰، ۱۰۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن تهیه و منحنی جذب بر حسب غلظت رسم و معادله آن به دست آمد.

#### فعالیت آنزیم های ضد اکسایش

آنزیم های مورد بررسی شامل سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POX) بودند. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس قابلیت بازدارندگی آن در احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (Beauchamp and Fridovich, 1971). فعالیت آنزیم کاتالاز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط آیبی (Aebi, 1984) و بر اساس میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه ( $H_2O_2$ ) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط هرزاگ و فهیمی (Herzog and Fahimi, 1973) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش نیز پس از تهیه عصاره، ثبت تغییرات جذب نور نمونه ها در طول موج ۴۶۵ نانومتر که بیانگر میزان تخریب و

## نتایج و بحث رشد و باردهی

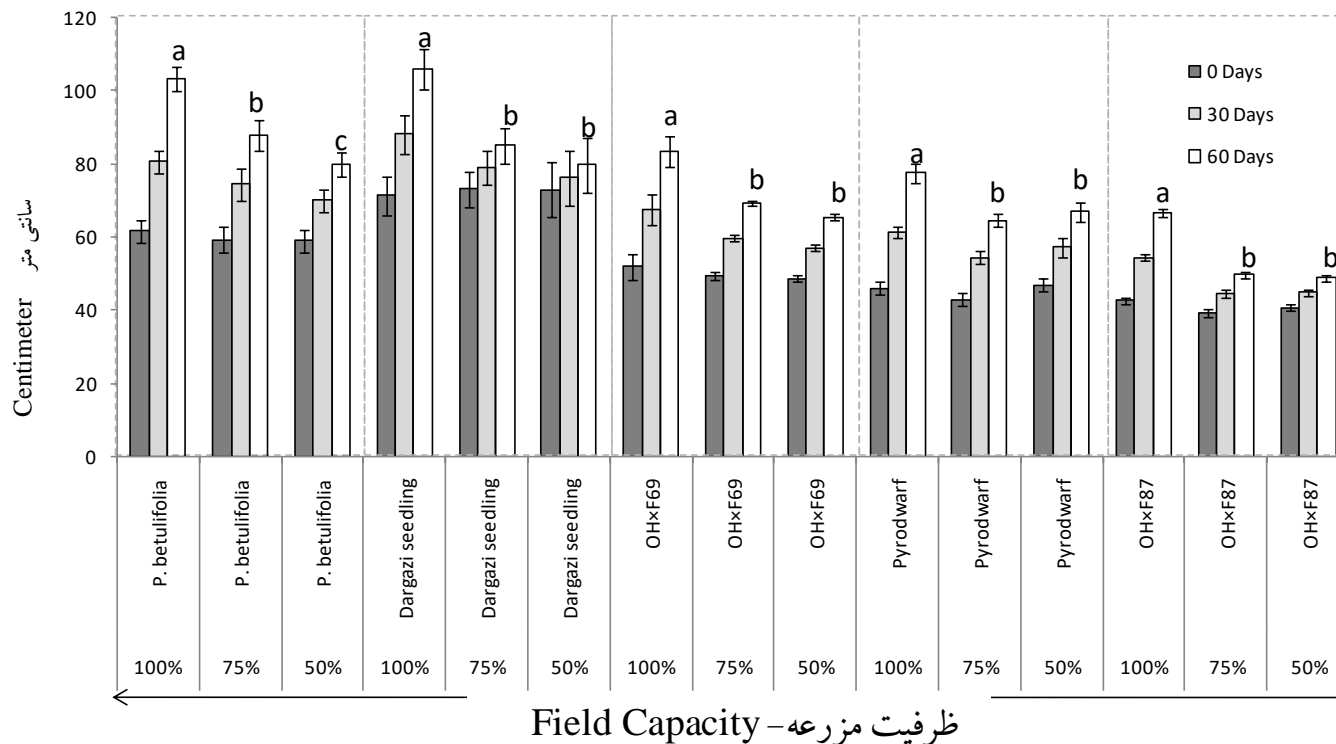
نتایج به دست آمده نشان داد تنش کسر آبیاری بر کاهش رشد هر پنج نوع پایه مورد استفاده در این پژوهش اعم از پایه‌های با منشاء بذر شامل پایه درگزی و پایه *P. betulifolia* Bunge در کنار سه پایه رویشی OH×F69، OH×F87 و پیرو دوارف تاثیر گذار بود (شکل ۱). تیمارهای تنش کسر آبیاری اعمال شده در سطح ۷۵ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه به ترتیب به منظور ایجاد تنش ملایم و نسبتاً شدید کسر آبیاری بود. ارتفاع پایه‌ها در شرایط بدون تنش دارای بلندترین ارتفاع پس از ۳۰ و ۶۰ روز بود و با افزایش شدت تنش، ارتفاع پایه‌ها نسبت به شاهد بدون تنش، کوتاه تر بود.

مقایسه ارتفاع پایه‌های مورد بررسی نشان داد که پایه‌های مورد بررسی در سطح تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به شاهد کاهش معنی دار رشد را که بر اساس ارتفاع نهائی نهال ارزیابی شده بود، نشان دادند (شکل ۱). از سوی دیگر، مقایسه ارتفاع نهائی پایه‌های مورد بررسی در سطح تنش ۷۵ درصد کسر آبیاری با سطح تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه نشان دهنده معنی دار بودن کاهش رشد تنها در پایه *P. betulifolia* Bunge بود، و در سایر پایه‌ها بین دو سطح تنش فوق تفاوت معنی داری وجود نداشت. پایه *P. betulifolia* Bunge از نظر رشد بسیار

سریع‌الرشد است و در گروه پایه‌های بسیار پابند گلابی محسوب می‌شود (Abdollahi, 2010). از سوی دیگر در گروه بندی بل (Bell, 1991)، پایه *P. betulifolia* Bunge در گروه پایه‌های بسیار متحمل به تنش خشکی طبقه بندی شده است.

با توجه به اینکه پژوهش حاضر در شرایط گلخانه‌ای انجام و امکان رشد عمیق ریشه‌های این پایه در گلدان وجود نداشت و از سوی دیگر با توجه به قدرت رشد بسیار زیاد این پایه در خاک‌های مختلف، از جمله خاک‌های مناطق نیمه خشک ایران، به نظر می‌رسد این تحمل به خشکی می‌تواند بیشتر در اثر قدرت رشد عمقی و نفوذ ریشه به اعماق خاک باشد، و بخش کمتری از آن به قدرت جذب آب در پتانسیل‌های پائین آب در خاک ناشی شده باشد. این نتایج با بررسی قبلی ظهوری و همکاران (Zohouri et al., 2020) منطبق است، زیرا آنها نیز بر اساس سرعت رشد نسبی و تعداد برگ نتیجه مشابهی را در پایه *P. betulifolia* Bunge گزارش کردند.

پایه‌های مورد بررسی، بجز از پایه *P. betulifolia* Bunge، تفاوت معنی داری از نظر ارتفاع پایه‌ها در دو سطح تنش ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه کسر آبیاری نداشتند (شکل ۱). لیکن مقایسه ارتفاع نهائی نشان داد که در کلیه پایه‌ها، بجز پایه پیرو دوارف، میزان رشد نهائی در سطح تنش ۵۰ درصد کسر آبیاری، نسبت به تنش ۷۵ درصد کاهش و تنها



شکل ۱- مقایسه ارتفاع پایه‌های گلابی بر اساس دوره‌های صفر (شروع آزمایش)، ۳۰ و ۶۰ روز بعد از اعمال تنش کسر آبیاری. تیمارهای کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه اعمال و با شاهد بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) مقایسه شد. حروف مشابه در بالای نمودارهای هر پایه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار میزان ارتفاع پایه‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد می‌باشد. خطوط عمودی نمودار بیانگر میانگین‌ها  $\pm$  خطای استاندارد است

Fig. 1. Comparison of the height of pear rootstocks at zero (beginning of experiment), 30 and 60 days after application of deficient irrigation treatments. Deficient irrigation treatments were applied at two levels; 75 and 50 percent of the field capacity and compared with non- deficient irrigation (100% of filed capacity irrigation) as control. Similar letters on the top of bars of each particular rootstock, show not significant differences at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Tests. The vertical lines on the bars show the means  $\pm$  standard errors



به عنوان شاخص تنش اکسایشی و درصد نشت یونی به عنوان نتیجه شدت تنش اکسایشی در پایه‌های گلابی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی و شدت آن هم از نظر طول دوره تنش و هم از نظر شدت تنش کسر آبیاری، میزان تولید پراکسید هیدروژن در بافت پایه‌های مورد بررسی افزایش نشان داد (جدول ۱).

در شرایط بدون تنش، میانگین میزان پراکسید هیدروژن بین ۲۳/۷ میکرومول در گرم بافت تازه بود، و در پایه OH×F87 تا ۳۲/۵ میکرومول در گرم بافت تازه رسید (جدول ۱). با افزایش شدت تنش کسر آبیاری و مدت اعمال تنش، میزان پراکسید هیدروژن در دو پایه پیروودارف و *P. betulifolia* Bunge به ترتیب به ۸۱/۳ و ۸۰/۳ میکرومول در گرم بافت تازه افزایش یافت (جدول ۱).

نکته حائز اهمیت در این است که بافت‌های کلیه موجودات از جمله بافت‌های گیاهی دارای مقادیری از رادیکال‌های فعال اکسیژن به عنوان تولیدات ثانویه واکنش‌های بیوشیمیایی می‌باشند و کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها به عنوان دو منشاء اصلی آنها ایفای نقش می‌کنند (Bhattacharjee, 2011). از سوی دیگر چنانچه ذکر شد، تنش‌های زنده و غیرزنده با تغییر در این تعادل سطوح رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب ایجاد خسارت به غشاء سلولی و ایجاد خسارت در داخل بافت‌ها می‌شوند. بر این اساس به نظر می‌رسد سطوح

در پایه پیروودارف رشد کم و بیش یکسان بود. بررسی دیگر در رابطه با مقایسه تنش خشکی در پایه پیروودارف با پایه بذری نشان داده است که در سطوح تنش ملایم، پایه پیروودارف حتی نسبت به پایه‌های بذری در گزی تحمل بهتری نسبت به تنش خشکی داشت (Maleki Asayesh et al., 2022).

تجارب میدانی استفاده از پایه پیروودارف در سطح تجاری در باغ‌های کشور نیز تایید کننده این است که پایه پیروودارف حتی نسبت به پایه‌های بذری، از استقرار و رشد اولیه خوبی برخوردار است و این سبب رشد بهتر و سبزینگی بالاتر در ارقام پیوندی روی این پایه شده است. بخشی از این رشد مطلوب‌تر در رقم و استقرار باغ‌های اقتصادی تر ارقام گلابی روی پایه پیروودارف می‌تواند ناشی از تحمل بهتر آن به تنش خشکی، شبکه ریشه‌ای گسترده (Abdollahi, 2010) و تحمل بالاتر آن به سطوح بالاتر آهک فعال در خاک در مقایسه با پایه بذری (Esmaili et al., 2019) باشد.

### تنش اکسایشی و نشت یونی

هر گونه تنش محیطی زنده و یا غیرزنده که سبب تغییر در تعادل اکسیداسیون و احیاء سلول‌های گیاهی شود، به دنبال آن تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن، پراکسیده شدن غشاء سلولی و چربی‌های آن و در نتیجه نشت یونی را به همراه دارد (Bhattacharjee and Mukherjee, 2001). بر این اساس، تولید پراکسید هیدروژن

نسبی پراکسید هیدروژن ۲۰ تا ۲۰ میکرومول در ترکیب در بافت برگ پایه‌های گلابی محسوب گرم بافت تازه، سطح متعادل و غیر مضر این می‌شود.

جدول ۱- مقایسه تولید پراکسید هیدروژن و میزان نشت یونی در بافت پایه‌های گلابی در دوره ۳۰ و ۶۰ روزه پس از اعمال تنش کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه با تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)

Table 1. Comparison of the hydrogen peroxide generation and electrolyte leakage in the tissues pear rootstocks at 30 and 60 days after application of deficient irrigation at two levels; 75% and 50% of field capacity with non-deficit irrigation treatment (100% of field capacity)

پایه Rootstock	کسر آبیاری درصد نشت یونی (درصد ظرفیت مزرعه) Deficit Irrigation (FC%)	پراکسید هیدروژن (میکرومول بر گرم بافت تازه) Hydrogen Peroxide ( $\mu\text{M g}^{-1}$ fresh weight)		درصد نشت یونی Electrolyte leakage (%)	
		30 days	60 days	30 days	60 days
<i>Pyrus betulifolia</i> Bunge	100	25.2c	32.5c	15.0c	17.9c
	75	30.8b	51.5b	19.2b	21.4b
	50	54.7a	80.3a	23.5a	27.8a
Dargazi seedling	100	28.0c	29.1c	16.5c	13.9c
	75	34.0b	43.4b	24.3b	23.7b
	50	49.2a	74.3a	31.3a	32.0a
OH×F69 (Daynir)	100	30.7c	30.3c	15.8c	15.4c
	75	41.8b	45.9b	23.1b	20.2b
	50	59.7a	77.5a	27.7a	27.5a
Pyrodwarf	100	31.8c	32.0c	18.0c	18.6c
	75	42.6b	51.6b	21.4b	24.7b
	50	60.1a	81.3a	27.8a	29.6a
OH×F87 (Daytor)	100	23.7c	28.6c	17.6c	15.8c
	75	31.4b	41.0b	25.5b	22.7b
	50	46.5a	72.4a	30.2a	30.5a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار ندارند. Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

بالاترین سطح پراکسید هیدروژن را از خود در دوره ۶۰ روزه از تنش در شدت تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه بروز دادند. این نتایج با گزارش نیو و همکاران (Niu et al., 2021) در رابطه با افزایش نشت یونی و پراکسید هیدروژن در گونه گلابی *P.×bretschneideri* Rehd.

با توجه به نتایج ارائه شده در شکل ۱ و نتایج ظهوری و همکاران (Zohouri et al., 2020)، پایه پیروودوارف با بیشترین تحمل به تنش و پایه *P. betulifolia* Bunge سطح تحمل کمتری در مقایسه با پایه پیروودوارف نشان دادند. این در حالی است که در این پژوهش هر دو پایه

مطابقت دارد.

مطالعه گسترده روی رفتار گونه فعال اکسیژن پراکسید هیدروژن نشان داد که در شرایط هر دو تنش زنده و غیر زنده، این مولکول نقش دوگانه‌ای در تحمل گلابی به تنش ایفا می‌کند، گاهی بافت‌های گیاهی به منظور جلوگیری از آثار مخرب رادیکال سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ ) و یا جلوگیری از تولید رادیکال بسیار مخرب هیدروکسیل ( $OH^{\cdot-}$ )، با تجمع پراکسید هیدروژن و سپس با فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی نظیر کاتالاز و انواع پراکسیدازها، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Abdollahi et al., 2015; Bhattacharjee and Mukherjee; 2001; Hassani et al., 2016).

بررسی میزان نشت یونی به عنوان نتیجه نهائی تنش اکسایشی حاصل از کسر آبیاری در پایه‌های گلابی مورد بررسی نشان داد که به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به صورت محدود در شرایط بدون تنش، میزان محدودی از نشت یونی موجود بود که گیاه با فعالیت سازکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی دفاع ضد اکسایشی، تلاش می‌نماید میزان این نشت یونی را در سطح حداقلی و بدون آسیب به غشاء که بر اساس این بررسی بین ۱۵ تا ۲۰ درصد در بافت‌های پایه‌های گلابی ارزیابی بود، حفظ نماید (جدول ۱).

بر اساس این نتایج، افزایش نشت یونی به بالای ۲۰ درصد، سبب ایجاد تنش ملایم و

کاهش نسبی رشد شد. میزان نشت یونی حدود ۳۰ درصد و بالاتر سبب تنش شدید و کاهش قابل توجه رشد خواهد شد (شکل ۱ و جدول ۱). اگرچه به نظر می‌رسد که بر اساس این نتایج، نشت یونی نیز به عنوان تنها شاخص نهائی مرتبط با رشد و شدت تنش ناشی از خسارت‌های تنش اکسایشی بافت مطرح نیست، عوامل ناشناخته دیگری در این بین می‌تواند با وجود سطح نسبی بالای نشت یونی، رشد بافت و پایداری سلول‌ها را در این شرایط را حفظ کند.

#### فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی

بافت‌های گیاهی به‌طور پیوسته در نتیجه فعالیت‌های حیاتی و به‌ویژه فعالیت زنجیره‌های انتقال الکترون غشائی خود با تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و آنزیم‌های ضد اکسایشی مختلف به ویژه سه آنزیم: سوپراکسید دیسموتاز با تبدیل سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ ) به گونه فعال کم خطر پراکسید هیدروژن، کاتالاز و انواع پراکسیدازها و با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، از ایجاد رادیکال مخرب هیدروکسیل ( $OH^{\cdot-}$ )، در تنش‌های مختلف اعم از تنش خشکی در گیاهان و تخریب بافت‌ها تا حد امکان جلوگیری می‌کنند (Bhattacharjee and Mukherjee, 2001). بنابراین، در شرایط بدون تنش و یا تنش ملایم نیز سطوح پائینی از فعالیت این آنزیم‌ها در بافت پایه‌های گلابی مورد بررسی در این پژوهش مشاهده شد که اطلاعات جدول ۲ تایید کننده آن می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در بافت پایه‌های گلابی طی در ۳۰ و ۶۰ روز پس از اعمال تنش کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه با تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)

Table 2. Comparison of anti-oxidative enzymes activities in tissues of pear rootstocks at 30 and 60 days after application of deficient irrigation at two levels; 75% and 50% of field capacity with non-deficit irrigation treatment (100% of field capacity)

پایه‌ها Rootstocks	کسر آبیاری Deficit Irrigation (FC%)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (واحد بر میلی گرم پروتئین برگ) (units mg <sup>-1</sup> leaf protein)		کاتالاز Catalase (واحد بر میلی گرم پروتئین برگ) (units mg <sup>-1</sup> leaf protein)		آسکوربات پراکسیداز (میکرومول اسید آسکوربیک بر میلی گرم پروتئین برگ) Ascorbate Peroxidase (μmol ASA mg <sup>-1</sup> leaf protein)	
		30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days
<i>Pyrus betulifolia</i> Bunge.	100	149.8c	250.1c	0.17c	0.18c	1.35c	2.07c
	75	264.5b	302.3b	0.26b	0.38b	2.97b	3.01b
	50	390.3a	342.0a	0.32a	0.53a	4.22a	4.60a
Dargazi seedling	100	154.0c	284.1c	0.19c	0.16c	1.22c	1.36c
	75	251.3b	319.8b	0.25b	0.31b	2.07b	2.37b
	50	384.0a	359.2a	0.31a	0.47a	3.08a	3.31a
OH×F69 (Daynir)	100	165.8c	231.8c	0.17 c	0.16c	1.50c	1.65c
	75	346.4b	279.9b	0.24b	0.30b	2.01b	2.11b
	50	404.2a	305.4a	0.31a	0.50a	4.45a	5.03a
Pyrodwarf	100	168.9c	248.8c	0.19b	0.16c	1.65c	1.56c
	75	303.0b	295.3b	0.34a	0.31b	2.57b	2.61b
	50	419.2a	339.0a	0.35	0.51a	4.84a	5.01a
OH×F87 (Daytor)	100	134.5c	215.5b	0.19c	0.16c	1.27c	1.35c
	75	264.8b	252.6a	0.26b	0.30b	2.07b	2.21b
	50	345.3a	286.3a	0.31a	0.47a	3.07a	3.20a

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

آسکوربات پراکسیداز ۱/۲ تا ۲/۰ میکرومول اسید آسکوربیک به ازاء میلی گرم پروتئین برگ در دقیقه بود (جدول ۲).

بر اساس این ارزیابی، سطح حداقلی فعالیت سه آنزیم فوق الذکر در گونه‌ها و پایه‌های گلابی مورد ارزیابی تا حدی متفاوت بود، و در بین دو دوره ۳۰ تا ۶۰ روزه نیز تفاوت‌هایی نشان دادند. این تفاوت‌ها ناشی از واکنش بسیار سریع

هر سه آنزیم فوق‌الذکر در شرایط بدون تنش کسر آبیاری در هر دو دوره ۳۰ و ۶۰ روزه فعالیت حداقلی خود را در بافت‌های گلابی بروز دادند که در این بین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محدوده ۱۵۰ تا ۲۸۰ واحد به ازاء میلی گرم پروتئین برگ و فعالیت آنزیم کاتالاز، ۰/۱۶ تا ۰/۱۹ واحد به ازاء میلی گرم پروتئین برگ و فعالیت آنزیم

شاخص‌های رشد، سطح تنش بر اساس نشت یونی و تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و اثر متقابل آنها با فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مورد بررسی، ارتباط آنها به صورت مبسوط‌تر و به صورت کمی، بر اساس شاخص همبستگی پیرسون (Pearson correlation coefficients)، در صفحه‌های بعد مورد بررسی قرار گرفته است.

### همبستگی آنزیم‌های ضد اکسایشی با شاخص‌های تنش

در بین سازکارهای تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تعدیل آنها از طریق فعالیت‌های آنزیمی ضد اکسایشی و همچنین ترکیبات ثانویه‌ای نظیر مواد فنلی درون بافت‌های گیاهی (Bhattacharjee, 2011) ارتباط نزدیکی وجود دارد. لیکن این تغییرات همیشه در یک جهت نیست، بلکه بافت‌های گیاهی و بویژه درخت گلابی از سازکارهای متفاوت و چند جانبه برای تعدیل آثار تنش‌های زنده و غیرزنده در ارقام و پایه‌های مختلف استفاده می‌کند (Abdollahi and Salehi, 2018; Niu *et al.*, 2021).

بررسی ضرایب همبستگی بین ارتفاع پایه با کلیه صفات مورد ارزیابی نشان داد که اگرچه هیچکدام از ضرایب همبستگی معنی‌دار نبودند، لیکن تقریباً تمامی شاخص‌های مورد ارزیابی مشتمل بر تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن، نشت یونی و فعالیت آنزیم‌های مورد ارزیابی با ارتفاع نهائی پایه همبستگی منفی داشتند (جدول ۳). این بدان معنی است که پایه‌های با ارتفاع

ژن‌های موثر در واکنش‌های ضد اکسایشی و اهمیت بسیار سریع آنها در جلوگیری از تولید، تجمع و تاثیر مخرب رادیکال‌های فعال اکسیژن در بافت‌های گیاهی به طور عموم (Bhattacharjee, 2011) و گلابی به طور خاص می‌باشد (Hassani *et al.*, 2016).

نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش کسر آبیاری از سطح صفر به ۷۵ و سپس به ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه، میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مورد بررسی در همه پایه‌ها تقریباً به صورت یکنواخت و هماهنگی افزایش یافت (جدول ۲). همچنین به طور معمول با گذشت ۶۰ روزه از تنش کسر آبیاری، افزایش بیشتری را در فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی بافت پایه‌های گلابی به همراه داشت. میزان افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در محدوده دو برابر شدن و برای دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در محدوده دو تا سه برابر شدن فعالیت مشاهده شد.

نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج نیو و همکاران (Niu *et al.*, 2021) در رابطه با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به منظور کاهش شدت تولید و تجمع گونه فعال پراکسید هیدروژن در گونه *P. ×bretschneideri* Rehd. مطابقت دارد. این پژوهشگران نقش پروتئین گلیسین بتائین را به عنوان یک پروتئین کلیدی در هماهنگی و تنظیم سازکارهای تحمل به تنش به خشکی در این گونه گزارش کردند. با توجه به ارتباط

کوتاه تر، تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و  
 نشت یونی بیشتر، سطح فعالیت آنزیم‌های  
 سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات  
 پراکسیداز بالاتر را داشتند (جدول ۳).

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون بین ارتفاع پایه، صفات فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های  
 ضد اکسایشی در بافت پایه‌های در ۳۰ و ۶۰ روز پس از اعمال تنش کسر آبیاری در دو سطح ۷۵ و ۵۰  
 درصد ظرفیت مزرعه و تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)

Table 3. Pearson correlation coefficients between rootstock height, physiological characteristics and activities of antioxidative enzymes in the tissues of pear rootstocks at 30 and 60 days after deficient irrigation stress application at 75% and 50% of field capacity (FC) non-deficit irrigation treatment (100% of field capacity)

Trait	صفت	Hydrogen Peroxide		Electrolyte Leakage		Superoxide Dismutase		Catalase Activity		Ascorbate Peroxidase	
		30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days	30 days	60 days
Height	ارتفاع	-0.153	-0.153	-0.276	-0.213	-0.236	0.172	-0.263	-0.117	-0.142	-0.085
Hydrogen Peroxide	30 days		0.884**	0.734**	0.777**	0.892**	0.602**	0.740**	0.851**	0.880**	0.875**
	60 days			0.778**	0.882**	0.924**	0.705**	0.768**	0.957**	0.923**	0.916**
Electrolyte Leakage	30 days				0.873**	0.817**	0.531*	0.725**	0.812**	0.685**	0.660**
	60 days					0.859**	0.630**	0.767**	0.989**	0.805**	0.791**
Superoxide dismutase	30 days					0.679**		0.816**	0.929**	0.880**	0.867**
	60 days							0.541*	0.704**	0.604**	0.608**
Catalase activity	30 days							0.785**		0.744**	0.723**
	60 days									0.921**	0.919**

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

\* and \*\*: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

پایه‌های گلاب بود. این یافته با نتایج نیو و همکاران (Niu et al., 2021) برای گونه گلابی *P. × bretschnideri* Rehd. مطابقت دارد.

در پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده، بافت‌های گیاهی به ترتیب از تولید رادیکال سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ )، تبدیل این رادیکال به پراکسید هیدروژن و در نهایت ایجاد رادیکال مخرب هیدروکسیل ( $OH^{\cdot-}$ ) در شرایط تنش شدید تبعیت می کند (Bhattacharjee, 2011). بر همین اساس ترتیب و اولویت‌بندی افزایش فعالیت آنزیمی

ضرایب همبستگی بین سایر صفات شامل: سطح فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و نشت یونی همبستگی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). بر این اساس، همبستگی بین تولید گونه فعال پراکسید هیدروژن و نشت یونی در سطح احتمال یک درصد ( $r=0.734^{**}$ ) معنی دار بود که بیانگر تاثیر مستقیم تولید پراکسید هیدروژن بر روی افزایش نشت یونی در بافت

### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین تحمل به تنش کسر آبیاری در بین پایه‌های مورد بررسی شامل پایه‌های بذری در گزی و *Pyrus betulifolia*، و پایه‌های همگروه پیرو دوارف، OH×F69 و OH×F87، بر اساس رشد مربوط به پایه پیرو دوارف بود، که با گزارش‌های پیشین ارزیابی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیک و فتوسنتزی این پایه‌ها در شرایط تنش مطابقت داشت.

ارزیابی تولید گونه فعال اکسیژن پراکسید هیدروژن بیانگر وجود سطح حداقل تولید این گونه اکسیژن فعال در بافت‌های پایه‌های مورد بررسی، بین ۲۳/۷ میکرومول در گرم بافت تازه در پایه OH×F87 تا ۳۲/۵ میکرومول در گرم بافت تازه در پایه *P. betulifolia* Bunge بود. با افزایش شدت و مدت تنش، میزان تولید این گونه فعال اکسیژن به میزان حداکثری ۸۱/۳ میکرومول در گرم بافت افزایش یافت.

ارزیابی‌ها نشان داد پراکسید هیدروژن با نشت یونی دارای همبستگی معنی دار در سطح احتمال یک درصد ( $r=0.734^{**}$ ) بود. همچنین بررسی ضرایب همبستگی نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در پاسخ به افزایش شدت تنش کسر آبیاری به ترتیب سوپراکسید دیسموتاز و سپس کاتالاز در پایه‌ها بود. نتایج نشان داد که حداقل بخشی از سازکار تحمل به تنش کسر آبیاری در بین پایه‌های مورد

کاهش دهنده این رادیکال‌ها نیز تا حد زیادی تابع سازکارهای دفاعی اتخاذی بافت و همچنین اولویت تولید این رادیکال‌ها در درخت گلابی است (Azarabadi et al., 2017).

بیشترین ضریب همبستگی بین رادیکال پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی آنزیم ضد اکسایشی پایه‌های گلابی مورد بررسی در ۳۰ روز پس از اعمال تنش کسر آبیاری مشاهده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان سد دوم دفاعی به منظور کاهش پراکسید هیدروژن تولیدی در ۶۰ روز پس از اعمال تنش بیشترین همبستگی را با رادیکال پراکسید هیدروژن نشان داد (جدول ۳).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز همبستگی بالا و مثبتی با پراکسید هیدروژن داشت (جدول ۳)، که بیانگر این است که در شرایط افزایش پراکسید هیدروژن، پایه‌های گلابی با افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز از تجمع بیش از حد این گونه فعال اکسیژن و تبدیل آن به رادیکال مخرب هیدروکسیل در طی واکنش فنتون (Fenton) که در حضور آهن فعال صورت می‌گیرد (Bhattacharjee, 2011; Maleki et al., 2022) جلوگیری می‌کند. بین فعالیت سایر آنزیم‌ها، همبستگی معنی دار تا بسیار معنی دار وجود داشت که بر اساس نقش هماهنگ آنها در تحمل به تنش و حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن، بسیار منطقی ارزیابی بود.

کشت بافتی دانش بنیان پردیس در رابطه با تهیه پایه‌های کشت بافتی مورد نیاز در این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند. همچنین نگارندگان به خاطر تامین پایه‌های بذری گونه *P. betulifolia* Bunge از سرکار خانم دکتر اعظم نیکزاد و نهالستان فلورسیلوا ایتالیا (Florsilva Italiana Co., LTD) تشکر می‌کنند.

بررسی ناشی از تبدیل رادیکال سوپراکسید به گونه فعال اکسیژن پراکسید هیدروژن و سپس جلوگیری از تجمع بیش از حد پراکسید هیدروژن برای جلوگیری از تبدیل آن به رادیکال‌های مخربی نظیر هیدروکسیل بود.

#### سپاسگزاری

نگارندگان بدینوسیله از همکاری نهالستان

#### References

- Abdollahi, H. 2010.** Pear: Botany, cultivars and rootstocks. Iranian Agricultural Ministry Publications. Tehran, Iran. 210 pp. (in Persian).
- Abdollahi, H., and Salehi, Z. 2018.** Histology of oxidative stress and generation of reactive oxygen species against progress of fire blight causal agent in pear cultivars. Seed and Plant Production Journal 33: 139-162 (in Persian).
- Abdollahi, H., Ghahremani, Z., and Erfani Nia, K. 2015.** Role of electron transport chain of chloroplasts in oxidative burst of interaction between *Erwinia amylovora* and host cells. Photosynthesis Research 124: 231-242.
- Abdollahi, H., Ghasemi, A., and Mehrabi Pour, S. 2008.** Evaluation of fire blight resistance in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. II. Resistance of genotypes to the disease. Seed and Plant 24: 529-541 (in Persian).
- Abdollahi, H., Muleo, R., and Rugini, E. 2005.** Study of basal growth media, growth regulators and pectin effects on micropropagation of pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. Seed and Plant Journal 21: 373-384 (in Persian).
- Aebi, H. 1984.** Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., and Karanov, E. 2001.** The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant, Cell and Environment 24: 1337- 1344.
- Alscher, R. G., Erturk, N., and Heath, L. S. 2002.** Role of superoxide dismutases in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53: 1331-1341.
- Azarabadi, S., Abdollahi, H., Torabi, M., Salehi, Z., and Nasiri, J. 2017.** ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging



- enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to *Erwinia amylovora* in pear (*Pyrus communis* L). *European Journal of Plant Pathology* 147: 279-294.
- Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971.** Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276-287.
- Bell, R. L. 1991.** Pears (*Pyrus*). *Acta Horticulturae* 290: 657-700.
- Bhattacharjee, S. 2011.** Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. pp. 1-30. In: Dutta Gupta, S. (ed.) *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants*. CRC Press. Boca Raton, FL.
- Bhattacharjee, S., and Mukherjee. A. K. 2001.** Abiotic stress induced membrane damage in plants: A free radical phenomenon. pp. 16–36. In: Pandey, S. K. (ed.) *Advances of stress physiology of plants*. Scientific Publisher, India.
- Esmaeili, A., Abdollahi, H., Bazgir, M., and Abdossi, V. 2019.** Effect of lime concentration on pear's rootstock/scion combinations. *Horticultural Science* 46: 123-131.
- FAO. 2018.** World food and agriculture-statistical yearbook. Food and Agriculture Organization Publication. Rome, Italy. 254 pp.
- Hassani, M., Salami, S. A., Nasiri, J., Abdollahi, H., and Ghahremani, Z. 2016.** Phylogenetic analysis of PR genes in some pome fruit species with the emphasis on transcriptional analysis and ROS response under *Erwinia amylovora* inoculation in apple. *Genetica* 144: 9-22.
- Henzler, T., and Steudle, E., 2004,** Oxidative gating of water channels (aquaporins) in *Chara* by hydroxyl radicals. *Plant Cell and Environment* 27: 1184-1195.
- Herzog, V., and Fahimi, H. D. 1973.** A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3, 3'-diaminobenzidine as hydrogen donor. *Analytical Biochemistry* 55: 554-62.
- Li, K. Q., Xu, Z. Y., and Huang, X. S. 2016.** Identification of differentially expressed genes related to dehydration resistance in a highly drought-tolerant pear, *Pyrus betulaefolia*, as through RNA-Seq. *PLOS One* 11 (2): e0149352. DOI: 10.1371/journal.pone.0149352.
- Lombard, P. B., Westwood, M. N. 1987.** Pear rootstocks. pp. 145-183. In: Rom R. C., and Carlson, R. F. (eds.) *Rootstocks for fruit crops*. Wiley. New York.
- Maleki Asayesh, Z., Arzani, K., Mokhtassi-Bidgoli, A., and Abdollahi, H. 2022.** Physiological and gas exchange response of Dargazi seedling and Pyrodwarf clonal pear (*Pyrus communis*) rootstocks to drought stress. (Under review-unpublished data).

- Maleki, R., Abdollahi, H., and Piri, S. 2022.** Variation of active iron and ferritin content in pear cultivars with different levels of pathogen resistance following inoculation with *Erwinia amylovora*. *Journal of Plant Pathology* 104: 281-293.
- Mansouryar, M., Erfani-Moghadam, J., Abdollahi, H., and Salami, S. A. 2016.** Optimization of *in vitro* micropropagation protocol for some vigorous rootstocks of pear. *Iranian Journal of Horticultural Science* 47: 361-370 (in Persian).
- Nakano, Y., and Asada, K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Niu, T., Zhang, T., Qiao, Y., Wen, P., Zhai, G., Liu, E., Al-Bakre, D. A., Al-Harbi, M. S., Gao, X., and Yang, X. 2021.** Glycinebetaine mitigates drought stress-induced oxidative damage in pears. *PLoS One*. 16: e0251389. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251389> pmid: 34793480.
- Tamura, F. 2012.** Recent advances in research on Japanese pear rootstocks. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 81: 1-10.
- Tukey, H. B. 1964.** Dwarfed fruit trees. Cornell University Press. Ithaca, USA. 562 pp.
- Wang, H., Wang, Z., Zhang, M., Jia, B., Heng, W., Ye, Z., Zhu, L., and Xu, X. 2018.** Transcriptome sequencing analysis of two different genotypes of Asian pear reveals potential drought stress genes. *Tree Genetics and Genomes* 14: 1-15.
- Westwood, M. N. 1993.** Temperate zone pomology: Physiology and culture. Timber Press. Portland, Oregon. 523 pp.
- Zohouri, M., Abdollahi, H., Arji, I., and Abdossi, V. 2020.** Variations in growth and photosynthetic parameters of some clonal semi-dwarfing and vigorous seedling pear (*Pyrus* spp.) rootstocks in response to deficit irrigation. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 19 (2): 105-121.