



دانشگاه گوار، رشت، ایران

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هشتم، شماره سوم، ۱۴۰۰

۳۳-۵۹

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

DOI: 10.22069/JOPP.2021.17954.2667

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پراکسید هیدروژن دانه‌های ایجاد شده حاصل از تلاقی‌های درون و بین‌گونه‌ای پسته (*P. vera* × *P. integerrima*) در شرایط تنش خشکی

حسن فرهادی^۱، محمد مهدی شریفانی^{۲*}، مهدی علیزاده^۲، حسین حکم‌آبادی^۳ و ساسان علی‌نیا^۴ فرد^۴

^۱دانش آموخته دکتری علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

^۲دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

^۳استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، ایستگاه تحقیقات پسته دامغان، دامغان، ایران،

^۴استادیار گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۳۰

چکیده

سابقه و هدف: تنش‌های مختلف به‌ویژه خشکی، کشت و کار پسته (*Pistacia vera* L.) را همواره با مشکلات و موانع زیادی روبه رو کرده است در حدی که در برخی استان‌ها با چالش چشم‌گیری مواجه شده است. فرآیندهای به‌نژادی از جمله تلاقی‌های هدفمند در جهت افزایش میزان مقاومت، می‌تواند راهکاری مطمئن و دائمی برای کم کردن اثرات زیان‌بار تنش خشکی بر گیاهان در نظر گرفته شود. بنابراین با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به عنوان یک محصول راهبردی و هم‌چنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، پژوهش‌ها به‌منظور دستیابی به پایه‌های هیبرید متحمل به خشکی ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی خصوصیات رشدی دانه‌های پسته و شناسایی پایه‌های متحمل، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به‌صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۹۸-۱۳۹۷ به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش شامل پنج پایه پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه، فندق و پنج هیبرید بین‌گونه‌ای (احمد آقایی × اینتگریم، اکبری × اینتگریم، سرخه‌حسینی × اینتگریم، گرمه × اینتگریم و فندق × اینتگریم) و سه سطح خشکی شامل شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند که ۸۴ روز روی دانه‌های سه ماهه پسته اعمال شدند.

یافته‌ها: طبق نتایج اثر پایه و خشکی و هم‌چنین اثر متقابل آن‌ها روی اکثر صفات مورد مطالعه معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود. البته در مورد صفت طول ساقه در ارتباط با اثر متقابل پایه و خشکی اثر معنی‌داری ($P \geq 0/05$) مشاهده نشد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح خشکی، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، پراکسید هیدروژن برگ و ریشه و هم‌چنین میزان ریزش برگ در دانه‌های پسته مورد مطالعه افزایش و صفات تعداد برگ، طول و قطر ساقه کاهش یافتند. بیش‌ترین مقدار فعالیت آنزیم‌ها در تیمار خشکی شدید و کم‌ترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد. از

* مسئول مکاتبه: mmsharif2@gmail.com

طرفی در ارتباط با صفات تعداد برگ، طول و قطر ساقه بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار به ترتیب در سطح شاهد و تنش شدید مشاهده شد. بر اساس نتایج، پاسخ‌های فیزیولوژیکی متفاوتی در پاسخ به تنش‌های اعمال شده بین پایه‌ها مشاهده شد. پایه‌های متحمل به خشکی میزان پراکسید هیدروژن و درصد ریزش برگ کم‌تر و از فعالیت آنزیمی و پر رشدی بیش‌تر نسبت به پایه‌های حساس به خشکی برخوردار بودند. پایه فندقی بیش‌ترین و پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما کم‌ترین افزایش میزان پراکسید هیدروژن برگ و ریشه و ریزش برگ را بین پایه‌ها نشان دادند. در ارتباط با این صفات، پایه‌های دانه‌الی احمد آقایی، سرخه حسینی، گرمه × اینتگریما، اکبری، گرمه و فندقی × اینتگریما به ترتیب از لحاظ تحمل به خشکی در رده‌های بعدی قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد بتوان از پایه‌های پر رشد هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما به عنوان پایه‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح ارقام با پتانسیل عملکرد زیاد در مناطق خشک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، هیبرید،

مقدمه

ایران یکی از تولیدکنندگان عمده پسته در جهان است و تاریخچه کشاورزی در ایران به ۳ الی ۴ هزار سال قبل بر می‌گردد (۴۰). تعداد ۱۱ گونه در این جنس وجود دارد که سه گونه آن در ایران شناسایی شده است. به طور عمده گونه‌های شناسایی شده در جنس پسته به صورت درختچه می‌باشند و از این ۱۱ گونه، تنها گونه *P. vera* است که میوه آن از نظر اقتصادی دارای ارزش بالایی است و سایر گونه‌ها عمدتاً به عنوان پایه و یا به عنوان گرده‌زا در اصلاح پسته به کار گرفته می‌شوند (۴۵، ۴۰).

عدم وجود شرایط محیطی بهینه در گیاهان نوعی تنش محسوب شده و باروری و رشد گیاهان توسط این عوامل تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی می‌باشد که تشدید آن معمولاً پاسخ‌های ریخت‌شناسی مانند کاهش رشد ساقه، کاهش سطح برگ، کاهش نرخ رشد و غیره در گیاهان به دنبال دارد (۱۲). اثرات منفی تنش خشکی بر ارتفاع گیاه، قطر نهال، تعداد و سطح برگ پسته خنجوک در اثر تنش خشکی گزارش شده است (۳۸).

در پژوهشی بن حامد و همکاران (۹) سطوح مختلف تنش خشکی را روی بذور ارقام آتلانتیکا، ورا و دانه‌های حاصل از بذور تلاقی بین‌گونه‌ای آتلانتیکا × ورا اعمال نمودند و مشاهده کردند که بذور هیبرید میزان مقاومت بیش‌تری نسبت به بذور آتلانتیکا و ورا داشتند. بر اساس گزارش‌های آدن (۵۳) گونه اینتگریما از نظر شرایط آب و هوایی دامنه‌های خشک با خاک‌های کم عمق را ترجیح می‌دهد و از نظر تحمل به خشکی متوسط است. در پژوهشی که اخیراً توسط ماریانا و همکاران (۴۲) در اسپانیا انجام شد، تأثیر تنش خشکی بر پیوندک دو ساله رقم کرمان روی سه پایه تربیتوس، آتلانتیکا و یو سی بی-۱ که حاصل تلاقی بین‌گونه‌ای اینتگریما (به‌عنوان والد پدری) و آتلانتیکا (به‌عنوان والد مادری) است مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ایشان نشان داد که بیش‌ترین میزان رشد رویشی رقم کرمان در شرایط خشکی روی پایه یو سی بی-۱ بود.

تنش خشکی با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد منجر به

آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، چربی‌های غشاء و ترکیبات سلولی دیگر می‌گردد (۵۹). آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی می‌باشند که مانع از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردند و از تخریب سلول‌ها ممانعت می‌نمایند. این مواد با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد می‌توانند آن‌ها را به شکل پایدار خود تبدیل کرده و از اثرهای مخرب آن‌ها جلوگیری کنند (۳۹). کاتالاز یکی از آنزیم‌های دفاعی مؤثر است که در همه موجودات زنده تحت تنش ایجاد می‌شود. این آنزیم‌ها با اثر مستقیم بر پراکسید هیدروژن، باعث کاهش اثرهای سمی آن می‌گردند (۵۶). پراکسید هیدروژن ماده‌ای سمی می‌باشد که طی بسیاری از سازوکارها و واکنش‌های طبیعی سلول ایجاد می‌گردد. افزایش این ماده برای سلول‌ها و بافت‌ها بسیار مخرب می‌باشد و باید به سرعت تجزیه گردد (۵۷). در واقع پراکسید هیدروژن به عنوان سوسترا مورد استفاده آنزیم کاتالاز قرار می‌گیرد و با تجزیه سریع این ماده باعث مهار اثرهای مخرب آن می‌شود. پراکسید هیدروژن برای سلول‌های گیاهی و به‌ویژه برای کلروپلاست بسیار سمی می‌باشد (۵۷). افزایش در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تنش در سایر مطالعات نیز مشاهده شده است (۲۸، ۴).

پراکسیدازها گروه بزرگی از آنزیم‌های دفاعی می‌باشند که در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان تولید می‌گردند. پراکسیدازها به عنوان آنزیم‌های سم‌زدای گونه‌های اکسیژن فعال شرکت می‌کنند. آنزیم پراکسیداز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن در سلول می‌گردد و بدین صورت از تولید گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری می‌شود و بنابراین با افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها، گیاه به میزان کم‌تری مورد حمله ROS واقع می‌شود. جایگاه پراکسیدازها در سیتوزول، دیواره سلولی و واکوئل می‌باشد (۲۸). از جمله پراکسیدازها می‌توان به

آسکوربات پراکسیداز اشاره کرد. آسکوربات پراکسیداز نقش به‌سزایی در تعدیل مقادیر ROS تولید شده طی تنش در سلول دارد. این آنزیم از آسکوربات به عنوان احیاءکننده استفاده می‌کند و باعث تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود و نقش به‌سزایی در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن ایفا می‌کند. این آنزیم در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون شرکت می‌کند. آسکوربات پراکسیداز در میتوکندری، سیتوسول، کلروپلاست، آپوپلاست و پراکسی‌زوم مشاهده می‌شود (۶). در پژوهشی قبادی و همکاران (۲۰۱۳) و دی کامپوس و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با شرایط بدون تنش اثر معنی‌داری مشاهده نکردند (۱۷، ۲۳). در مقابل آزمایش‌های زیادی وجود دارد که نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش رطوبتی می‌باشد (۳۷). از دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم، آنزیم گایاکول پراکسیداز می‌باشد. پراکسیدازها وابسته به آنزیم‌های اکسیدو ردوکتاز و از نوع پروتئین‌های آهن‌دار هستند، این آنزیم‌ها دارای وزن مولکولی حدود ۵۰ کیلو دالتون بوده که در بافت‌های مختلف گیاهان دارای آیزوآنزیم‌های (حالت‌های مختلف یک آنزیم) مختلفی می‌باشند. آنزیم گایاکول پراکسیداز، یکی از این آنزیم‌ها می‌باشد که کاتالیز H_2O_2 را انجام می‌دهد و مکان فعالیت آن در میتوکندری، سیتوزول، واکوئل و دیواره سلولی مشاهده شده است (۴۷).

با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به‌عنوان یک محصول راهبردی و همچنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، پژوهش‌ها به‌منظور دستیابی به پایه‌های هیبرید متحمل به خشکی ضروری می‌باشد (۵). مطالعات انجام شده تاکنون در جهت ارزیابی تنش خشکی ارقام و پایه‌های پسته از طریق انتخاب بذور و یا گیاه مادری مستقیم بوده و

(شهرستان بردسکن - شهر انابد) واقع در ۲۹۷ کیلومتری مشهد در سال ۹۶-۱۳۹۵ روی درختان ۱۴ ساله ارقام احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه و فندقی انجام شد. درختان پسته مورد آزمایش جهت رشد در فضای باغ در مختصات جغرافیایی $35^{\circ}23'14''$ $48^{\circ}01'57''$ طول شرقی، ۲۱ ۱۴ $35^{\circ}23'$ عرض شمالی و ارتفاع ۸۷۵ متر از سطح دریا قرار داشتند. هر درخت معادل یک تکرار بود و از هر درخت هفت شاخه که حداقل دارای سه الی چهار جوانه گل بود، انتخاب شد و چهار شاخه از آن‌ها برای گرده‌افشانی کنترل شده، دو شاخه جهت گرده‌افشانی آزاد و یک شاخه به منظور کنترل منفی در نظر گرفته شد (شکل ۱). قبل از باز شدن کامل خوشه‌های گل، روی شاخه‌ها الکل ۷۰ درصد اسپری شد تا از احتمال وجود گرده‌های ناخواسته جلوگیری گردد. به منظور اطمینان از گرده‌افشانی کنترل شده، در مرحله تورم جوانه، شاخه‌ها به وسیله کیسه‌های دو لایه ململ به ابعاد 30×45 سانتی‌متر ایزوله گردید. در زمان بستن کیسه‌های عایق‌بندی، با توجه به رشد طولی جوانه انتهایی، حدوداً ۱۵ سانتی‌متر از فضای انتهایی کیسه خالی در نظر گرفته شد. برای انتخاب والد نر ایتتگریم در منطقه ارزوئیه استان کرمان از درخت شماره ۱ دانه گرده جمع‌آوری شد و تا زمان آماده بودن والد‌های ماده، گرده‌ها در دمای -18° درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه با استفاده از سرنگ ترکیب آرد گندم و گرده ایتتگریم (نسبت ۱:۱) به داخل کیسه‌های عایق تزریق و عمل گرده‌افشانی صورت گرفت. این اقدام برای هر خوشه چهار مرتبه تکرار گردید. پس از گرده‌افشانی هنگامی که کلاله گل‌ها، قهوه‌ای شدند و میوه‌ها به صورت دانه ارزی رسیدند، کیسه‌های ململ از روی شاخه‌ها برداشته و با کیسه‌های توری بزرگ تعویض شدند تا از میوه‌های تشکیل شده مراقبت‌های لازم در خصوص کنترل

تاکنون بین بذور حاصل از تلاقی‌های کنترل شده، آزمایشی به منظور گزینش پایه متحمل به خشکی هم‌زمان با بهبود رشد رویشی انجام نشده است. به طور کلی تلاقی‌های کنترل شده و هدفمند در راستای افزایش میزان مقاومت، می‌تواند راهی مطمئن و دائمی برای کاهش اثرات زیان‌بار تنش خشکی بر گیاهان در نظر گرفته شود. گونه ورا (*Pistacia vera* L.) که عمده‌ترین پایه مورد استفاده در کشور است گونه‌ای کند رشد و دیر بازده می‌باشد. از طرفی سرعت رشد پسته گونه ایتتگریم (*P. integerrima* S) از تمام گونه‌های جنس پسته بیش‌تر می‌باشد و گاهی ارتفاع آن به بیش از ۱۸ متر گزارش شده است. گونه ایتتگریم نسبت به گونه آنالانتیکا رشد بیش‌تری داشته و زودتر به مرحله میوه‌دهی می‌رسد. عملیات پیوندزنی روی این پایه آسان و درختان یکنواختی تولید می‌شود. این گونه به دلیل مقاومت به قارچ ورتیسیلیوم در مناطق پسته خیز آمریکا گسترش یافته است (۱۴).

با توجه به این‌که تکثیر درختان پسته از طریق پیوند صورت می‌گیرد، بنابراین استفاده از پایه‌های مناسب که تحمل بالایی به تنش‌های محیطی از جمله خشکی داشته باشند، اهمیت زیادی دارد. بنابراین هدف از این پژوهش، ارزیابی فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ارتباط با میزان پراکسید هیدروژن و هم‌چنین بررسی خصوصیات رشدی دانه‌های ایجاد شده حاصل از تلاقی‌های درون و بین‌گونه‌ای پسته به منظور دستیابی به متحمل‌ترین پایه نسبت به خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مرحله اول: گرده‌افشانی کنترل شده و تولید بذور هیبرید: به‌منظور تولید بذور هیبرید، تلاقی کنترل شده در مؤسسه تحقیقات پسته استان قدس رضوی

نمودن، در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

آفات و سایر موارد صورت پذیرد. در اواخر تابستان برداشت بذرها هیبرید انجام شد و پس از خشک



شکل ۱- نحوه عایق‌سازی (الف)، کنترل منفی (ب)، تعویض کیسه‌های ململ با کیسه‌های توری (ج) در درختان پسته در مرحله گرده‌افشانی کنترل شده.

Fig. 1. How to insulate (a), negative control (b), replacing tinted bags with lace bags (c) in pistachio trees in controlled pollination stage.

آن‌ها با آب مقطر سه مرتبه شستشو داده شدند. در هر یک از واحدهای آزمایشی (گلدان‌ها) سه عدد بذر کاشته شد و پس از سبز شدن و اطمینان از استقرار، تعداد گیاهان داخل گلدان به سطح نهایی یک عدد در هر گلدان کاهش یافت. هر تکرار شامل چهار واحد آزمایشی (چهار گلدان) و هر گلدان شامل یک گیاه بود. دمای متوسط روزانه گلخانه ۲۵-۳۷ درجه سانتی‌گراد، دمای متوسط شبانه ۱۸-۲۲ درجه سانتی-گراد و رطوبت نسبی ۱۲ + ۴۵ درصد بود. بعد از ۳۵ روز از شروع کاشت (از ۲۰ اردیبهشت ماه) به مدت ۶۵ روز (تا ۲۳ تیر ماه)، تغذیه دانه‌ها هر ۱۲ روز یک بار با کود بیومین (446-sp) با غلظت ۲ گرم در لیتر و در مجموع ۶۰۰ گرم و استفاده از کود هیومکس ۹۵ (HUMAX 95- WSG) با غلظت ۷ گرم در لیتر و در مجموع ۲۱۰۰ گرم انجام شد. پس از رشد و مراقبت-های لازم از گیاهان، تیمارهای خشکی برای مدت ۱۲ هفته (از ۲۳ تیر تا ۱۵ مهر ۱۳۹۸) روی دانه‌های ۱۰۰ روزه اعمال شد (شکل ۲). اعمال تیمار خشکی به روش وزنی صورت گرفت. جهت شناسایی ترکیب

مرحله دوم: آزمون مقاومت به خشکی هیبریدهای تولید شده: این پژوهش در سال ۹۸-۱۳۹۷ به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با مختصات جغرافیایی "۳۸ ۲۳ ۵۴° طول شرقی، ۳۳ ۵۰ ۳۶° عرض شمالی و ارتفاع ۱۶۰ متر از سطح دریا روی پنج پایه دانه‌الی پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه، فندق و پنج هیبرید بین‌گونه‌ای (احمد آقایی × اینتگریم، اکبری × اینتگریم، سرخه حسینی × اینتگریم، گرمه × اینتگریم و فندق × اینتگریم) انجام شد. بذور حاصل از گرده‌افشانی آزاد و کنترل شده در ۱۷ فروردین ۱۳۹۸ در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر کشت شدند. بذرها قبل از کاشت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل خیس شدند و در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد و به مدت ۳۰ دقیقه با قارچ‌کش کاپتان ۲ در هزار به منظور ضدعفونی خیس‌انده و سپس جهت زودن بقایای مواد شوینده از

بر اساس محاسبات یاد شده، وزن هر گلدان برای هر سه تیمار ۱- شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۲- تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۳- تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) محاسبه گردید. طبق محاسبه‌های انجام شده با توجه به این‌که ظرفیت زراعی در نمونه خاک ۱۹ درصد محاسبه شد، معیار آبیاری هر گلدان، وزن روزانه آن‌ها در ساعت ۱۰ صبح بود و آب لازم برای رسیدن به هر سطح اضافه شد. هم‌چنین در این آزمایش برای تعیین وزن گیاه از گلدان‌های بدون گیاه هم استفاده شد تا برابر وزن گیاه به گلدان‌ها آب اضافه شود تا وزن گیاه در ظرفیت‌های زراعی مدنظر اختلالی ایجاد نکند.

خاک، در ابتدا آزمایش‌های مقدماتی با استفاده از محاسبات تعیین میزان آب در خاک خشک نسبت به ظرفیت مزرعه صورت پذیرفت. برای تعیین تیمارهای مقادیر آب در هر گلدان، ابتدا مقداری خاک درون آن قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت مجدد وزن شده و میزان آب در خاک مشخص گردید. سپس خاک خشک را در گلدان ریخته و به آرامی و تا حد اشباع، آب به آن اضافه شد و تا روز بعد رها گردید (۵۰). پس از خارج شدن کامل آب ثقلی، گلدان توزین شد و پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک، مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند.



شکل ۲- دانه‌های پسته تحت تیمار تنش خشکی.

Fig. 2. Pistachio seedlings under drought stress.

سانتریفیوژ گردید. سپس با استفاده از محلول‌رویی اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (۳۵)، فعالیت آنزیم پراکسیداز (۳۰)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۴۳)، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (۲۴) و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۱۱) به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. سنجش پراکسید هیدروژن: جهت اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن از روش ولیکووا (۲۰۰۰) استفاده شد (۵۵).

استخراج عصاره جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها: بافت تازه برگ به میزان ۰/۵ گرم در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع آسیاب گردید و سپس ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی EDTA ۰/۵ مولار و پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (PVPP) (Polyvinylpolypyrrolidone) ۲ درصد به بافت آسیاب شده اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۴۰۰۰ rpm

که در آن، A میزان جذب قرائت شده، ℓ ضریب خاموشی، عدد قرائت شده تقسیم بر ۰/۲۸، b عرض کوت برابر یک سانتی متر، C غلظت بر حسب مولار. تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

تعداد برگ: طبق نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرهای ساده و متقابل در مورد صفت تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار ($P \leq 0.01$) شد (جدول ۱).

با استفاده از ۰/۲۵ گرم بافت تازه برگ و ریشه در حمام یخ با ۵ میلی لیتر TCA ۰/۱ درصد ساییده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار (pH = ۷) و یک میلی لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. سپس در تاریکی به مدت یک ساعت قرار داده شد و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید. با استفاده از ضریب خاموشی $0.28 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ میزان پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از رابطه ۲ محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد.

$$A = \ell bc \quad (1)$$

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس و سطح معنی دار بودن میانگین مربعات مربوط به پارامترهای رویی دانه‌های مختلف پسته تحت تنش خشکی.

Table 1. Results of analysis of variance and level of significance of mean squares related to vegetative parameters of different pistachio rootstocks under drought stress.

میانگین مربعات Average of squares				درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
قطر ساقه Stem diameter	طول ساقه Stem length	ریزش برگ Leaf fall	تعداد برگ Number of leaves		
1.44**	762.20**	1928.55**	406.25**	9	پایه (A) Rootstock (A)
8.56**	1388.12**	3952.82**	2400.90**	2	خشکی (B) Drought (B)
0.068**	41.16 ^{ns}	105.03**	29.19**	18	A×B
0.0075	26.95	3.37	2.78	90	خطا Error
6.49	6.85	6.70	6.76		ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی دار.

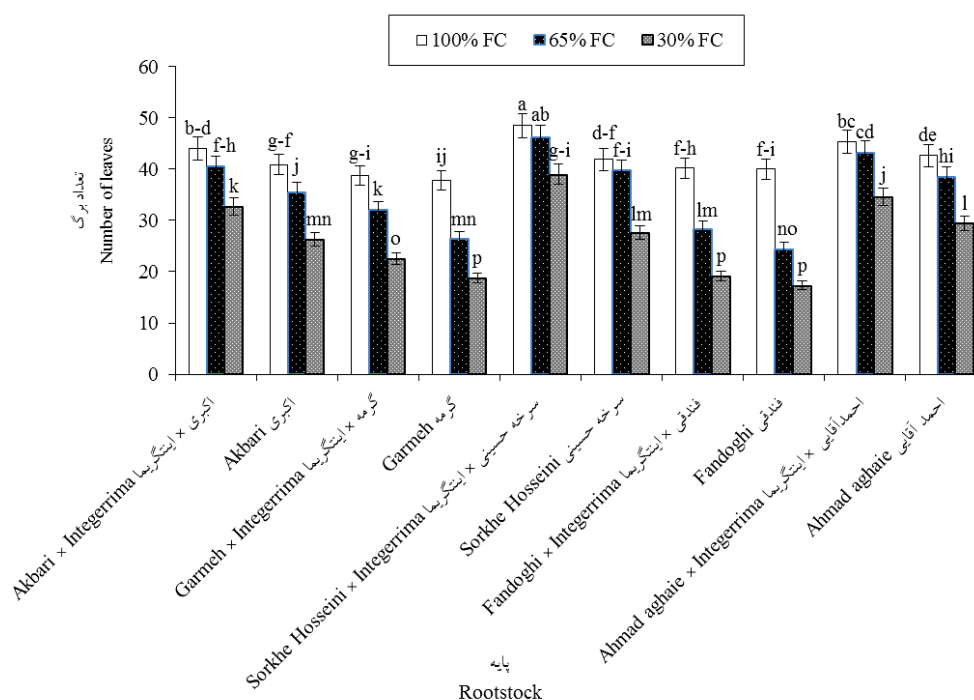
**، * and ^{ns} are significant at $\alpha=0.01$, 0.05 and non-significant.

تیمارهای تنش، پایه پر رشد سرخه حسینی × اینتگریمما در تیمار شاهد با میانگین ۴۸/۵۴ عدد برگ، در تنش

بررسی اثر متقابل پایه و خشکی (شکل ۳) نشان داد که در بین دانه‌ها، ۸۴ روز پس از شروع

تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه آتلانتیکا نسبت به سایر پایه‌ها در ارتباط با صفت تعداد برگ تحمل بیش‌تری به خشکی دارند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. البته بذور احمد آقایی، سرخه‌حسینی و اکبری که از گرده‌افشانی آزاد به‌دست آمده بودند نیز نسبت به سایر پایه‌ها در پایان تنش تحمل بیش‌تری نشان دادند که این عکس‌العمل به مقدار زیادی به پایه گیاه بستگی دارد که با نتایج فهیمی خویردی (۱۹) روی پسته مطابقت دارد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده است که سبب بسته شدن روزنه‌ها در اثر سنتز اسید آسبیزیک و در پی آن کاهش ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی می‌شود که به صورت کاهش رشد گیاهان نمایان می‌شود و با تشدید تنش، مرگ گیاه را در پی دارد (۱۰). وقتی گیاهان در شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرند به دلیل کاهش پتانسیل آب بافت‌های مرستمی، فشار تورژسانس مورد نیاز برای بزرگ شدن سلول کافی نبوده که این مسأله می‌تواند باعث کاهش انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد شده و به کاهش رشد دیواره سلولی و بزرگ نشدن سلول‌ها منجر گردد که در نهایت باعث کاهش تعداد برگ می‌شود (۳).

متوسط با میانگین ۴۶/۲۲ و در تنش شدید با میانگین ۳۸/۹۸ بیش‌ترین تعداد برگ را در تمامی سطوح تنش نشان داد به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد با میانگین ۱۹/۵۵ درصد کم‌ترین کاهش از لحاظ این صفت را نسبت به سایر پایه‌ها نشان داد. برای این صفت در تنش شدید، نسبت به تیمار شاهد پایه فندق با میانگین ۵۶/۵۶ درصد بیش‌ترین کاهش را نسبت به سایر پایه‌ها نشان داد. از نظر تعداد برگ، پایه‌های هیبرید احمد آقایی × ایتگرما، اکبری × ایتگرما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه × ایتگرما، گرمه، فندق × ایتگرما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در سطح آخر خشکی (۳۰) درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (۱۰۰) درصد ظرفیت زراعی) به ترتیب ۲۳/۴۹، ۲۵/۶۱، ۳۱/۰۴، ۳۳/۹۶، ۳۵/۴۹، ۴۱/۹۵، ۵۰/۳۳، ۵۲/۲۸ درصد کاهش نشان دادند. با توجه به این که گونه ایتگرما یک پایه پر رشد است. بنابراین می‌توان رشد بیش‌تر پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری در ارتباط با این صفت را به تأثیر پایه حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی کوهبانی و کریمی (۳۶) روی پسته مطابقت داشت. پژوهشگران مذکور گزارش کردند که بذور هیبرید به‌دست آمده از

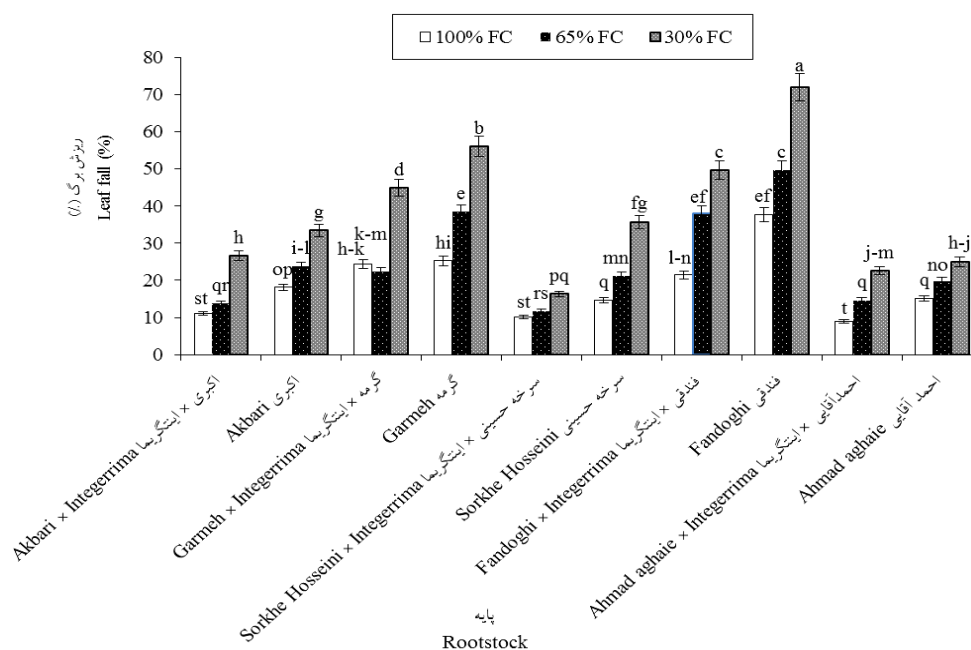


شکل ۳- اثر متقابل پایه و خشکی بر تعداد برگ ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

Fig. 3. Interaction of rootstock and drought on number of leaves of 10 pistachio seedling rootstocks.

گرمه، گرمه × اینتگریمما، اکبری و اکبری × اینتگریمما به ترتیب ۲۵/۰۴، ۲۲/۶۴، ۷۱/۹۹، ۴۹/۵۸، ۳۵/۷۱، ۱۶/۳۲، ۵۶/۰۸، ۴۴/۸۱، ۳۳/۴۴، ۲۶/۶۵ درصد نسبت به شاهد ریزش برگ نشان دادند. بنابراین پایه‌های هیبرید سرخه حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما و احمد آقایی کم‌ترین و پایه فندقی بیش‌ترین ریزش برگ را در بین پایه‌ها نشان دادند (شکل ۴). برای مقاومت در برابر خشکی و زنده‌مانی بیش‌تر یکی از مکانیزم‌های گیاه در شرایط کم‌آبی ریزش برگ می‌باشد که گیاه جهت حفظ خود اقدام به ریزش برگ‌های مسن و ضعیف که بیش‌تر مصرف‌کننده هستند می‌کند (۵۲).

اثر تنش خشکی بر ریزش برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف پایه، خشکی و اثر متقابل پایه و خشکی بر میزان ریزش برگ معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$) (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین همگام با افزایش شدت خشکی میزان ریزش در برگ‌ها نسبت به شاهد در تمامی پایه‌های دانه‌الی افزایش نشان داد به طوری که در سطح شاهد دانه‌الها کم‌ترین میزان ریزش برگ را داشتند. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطوح خشکی مخصوصاً در تنش شدید ریزش برگ در گیاهان بیش‌ترین مقدار بود به طوری که پایه‌های دانه‌الی احمد آقایی، احمد آقایی × اینتگریمما، فندقی، فندقی × اینتگریمما، سرخه حسینی، سرخه حسینی × اینتگریمما،

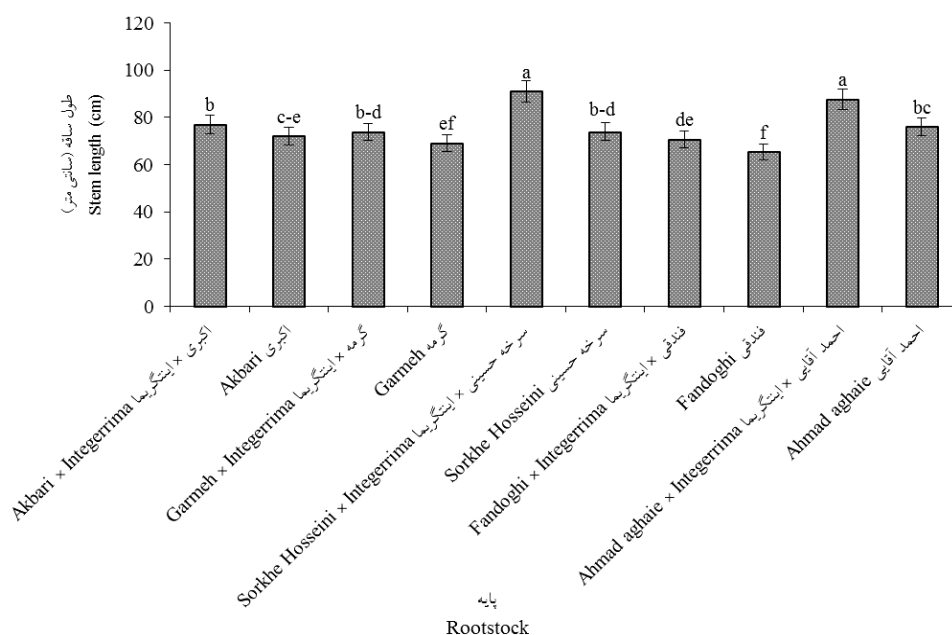


شکل ۴- اثر متقابل پایه و خشکی بر ریزش برگ ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

Fig. 4. Interaction of rootstock and drought on leaf fall of 10 pistachio seedling rootstocks.

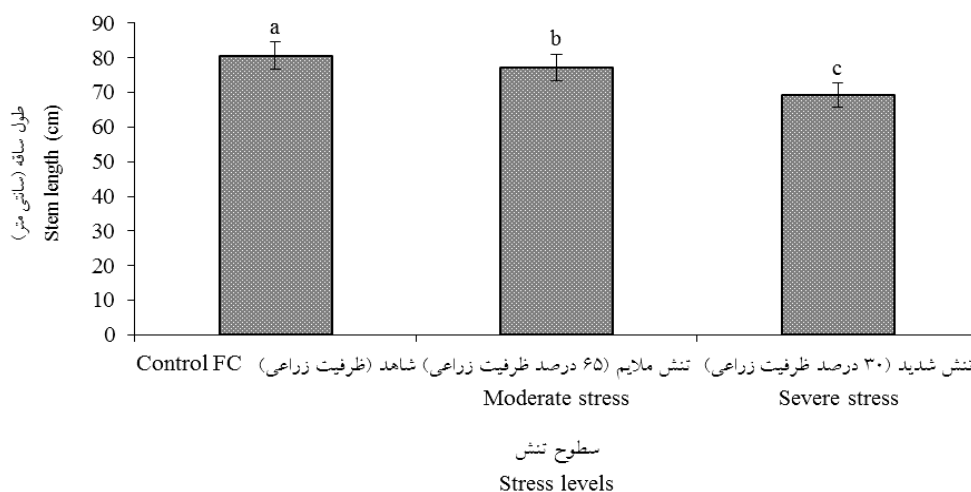
پایه از لحاظ این صفت ارزیابی شد. در ارتباط با نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر طول ساقه (شکل ۶) مشاهده شد که با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهشی از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد، ۱۴/۲۴ درصد کاهش مشاهده شد. با توجه به این که در شرایط تنش آبی فشار تورژسانس سلول‌های ساقه که در حال ازدیاد طول می‌باشند کاهش می‌یابد و از طرفی تولید مواد اصلی فتوسنتز نیز کم می‌شود، بنابراین طول میانگره‌های ساقه و در نتیجه ارتفاع گیاه تحت تأثیر سطوح خشکی کاهش می‌یابد (۲۹). ضابط و حسین‌زاده (۵۸) نیز گزارش کردند که کاهش ارتفاع گیاه در ساقه دلیلی بر این است که تنش خشکی باعث کاهش تقسیمات سلولی گردیده و رشد رویشی گیاه کاهش داده می‌شود بنابراین منجر به کاهش رشد و سطح فتوسنتزکننده گیاه می‌گردد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج بشارت و همکاران (۱۰) و قاسمی و همکاران (۲۲) روی پسته مطابقت دارد.

اثر تنش خشکی بر طول ساقه: طبق نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس، اثر پایه و خشکی بر صفت طول ساقه معنی‌دار ($P \leq 0/01$) شد. امادر مورد اثر متقابل پایه در خشکی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ($P \geq 0/05$) مشاهده نشد (جدول ۱). در این بررسی طول ساقه اختلاف معنی‌داری بین پایه‌ها نشان داد به طوری که پایه هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریمما و فندقی با میانگین ۹۱/۰۵ و ۶۵/۴۱ سانتی‌متر به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان این صفت را به خود اختصاص دادند. در ضمن پایه‌های دانه‌الی احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریمما، فندقی × اینتگریمما و گرمه از لحاظ این صفت در رده‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۵). نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی و کریمی (۳۶) در ارتباط با مقاومت به خشکی ارقام پسته مطابقت دارد. طبق نتایج پژوهشگران مذکور رقم هیبرید بین گونه‌ای آتلانتیکا × ورا در سطوح مختلف خشکی نسبت به ارقام قزوینی و بادامی ریز زرد ارتفاع ساقه بیش‌تری نشان داد و به عنوان متحمل‌ترین



شکل ۵- اثر نوع پایه بر طول ساقه ۱۰ پایه دانه‌های پسته تحت تنش خشکی.

Fig. 5. Effect of rootstock type on stem length of 10 pistachio seedlings under drought stress.



شکل ۶- اثر سطوح مختلف خشکی بر طول ساقه ۱۰ پایه دانه‌های پسته.

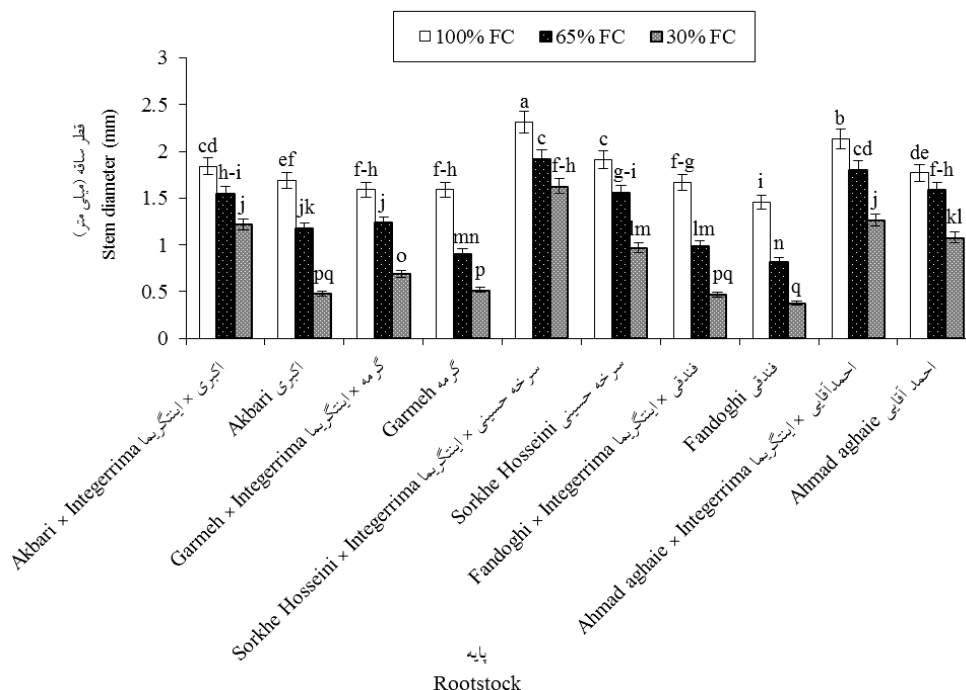
Fig. 6. Effect of different drought levels on stem length of 10 pistachio seedling rootstocks.

سرخه‌حسینی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریمما، گرمه، اکبری، فندقی × اینتگریمما و فندقی در تنش شدید نسبت به شاهد به ترتیب ۲۹/۴۳، ۶۷/۲۹، ۵۶/۶۰، ۴۹/۲۱، ۳۸/۹۸، ۴۰/۳۷، ۳۳/۶۹

اثر تنش خشکی بر قطر ساقه: بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس، تمامی اثرات ساده و متقابل در مورد قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد ($P \leq 0.01$) معنی‌دار گردید (جدول ۱). کاهش میزان قطر ساقه پایه‌های دانه‌های پسته

شدید با میانگین ۰/۳۸ میلی‌متر کم‌ترین میزان قطر ساقه را در بین تمامی تیمارها نشان داد و به عنوان حساس‌ترین پایه از لحاظ این صفت ارزیابی شد (شکل ۷). رشد سلول‌ها یکی از مهم‌ترین و حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی وابسته به کاهش فشار تورژسانس است. رشد گیاه به علت تولید سلول‌های دختری در تقسیم سلول‌های مریستمی و افزایش ابعاد سلول‌های جوان ایجاد می‌گردد. در شرایط کم‌آبی طولی شدن سلول‌های بیشتر گیاهان با قطع جریان آب از آوند چوب به سلول‌های در حال طولی شدن جلوگیری می‌گردد. در نتیجه خشکی باعث کاهش رشد و افت عملکرد می‌گردد؛ بنابراین با افزایش سطوح خشکی قطر ساقه گیاهان کاهش می‌یابد (۴). نتایج آزمایش حاضر با نتایج حیدری (۲۷) مبنی بر کاهش قطر ساقه پسته با افزایش تنش خشکی مطابقت دارد.

۷۱/۵۹، ۷۱/۸۵، ۷۳/۹۷ درصد بود. بر اساس نتایج پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما، احمد آقایی و سرخه‌حسینی از نظر قطر ساقه از ثبات بیش‌تری ناشی از تغییرات سطوح خشکی برخوردار بودند به طوری‌که اندازه قطر ساقه مربوط به این پایه‌ها در سطح آخر خشکی نسبت به سطح شاهد کم‌ترین کاهش را نسبت به سایر پایه‌ها داشته است. بنابراین پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و دو پایه احمد آقایی و سرخه‌حسینی که حاصل تلاقی با دانه گرده آزاد هستند به ترتیب نسبت به سایر پایه‌های دانه‌الی مورد آزمایش متحمل‌ترین پایه‌ها در برابر خشکی از نظر کاهش قطر ساقه می‌باشند. از طرفی در بین دانه‌الها، پایه فندقی در تیمار شاهد با میانگین ۱/۴۶ میلی‌متر، در تنش متوسط با میانگین ۰/۸۲ میلی‌متر و در تنش



شکل ۷- اثر متقابل پایه و خشکی بر قطر ساقه ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

Fig. 7. Interaction of rootstock and drought on stem diameter of 10 pistachio seedling rootstocks.

اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز: آنزیم کاتالاز اختلاف معنی داری ($P \leq 0.01$) در سطح اثرات ساده و متقابل عوامل آزمایشی از نظر فعالیت احتمال یک درصد نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس و سطح معنی دار بودن میانگین مربعات مربوط به فعالیت آنزیمی دانه‌های مختلف پسته تحت تنش خشکی.

Table 2. Results of analysis of variance and level of significance of mean squares related to enzymatic activity of different pistachio rootstocks under drought stress.

میانگین مربعات Average of squares							درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
پراکسید هیدروژن ریشه Root hydrogen peroxide	پراکسید هیدروژن برگ Leaf hydrogen peroxide	گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase		
3.93**	4.05**	0.00012**	1.51**	0.01**	0.0028**	0.286**	9	پایه (A) Rootstock (A)
8.60**	19.36**	0.00079**	15.46**	0.395**	0.0091**	1.59**	2	خشکی (B) Drought (B)
0.303**	0.571**	0.0000071**	0.774**	0.005**	0.00014**	0.048**	18	A×B
0.018	0.017	0.00000025	0.016	0.00011	0.0000057	0.00028	90	خطا Error
7.06	5.46	5.59	7.15	8.21	6.87	4.28		ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی دار.

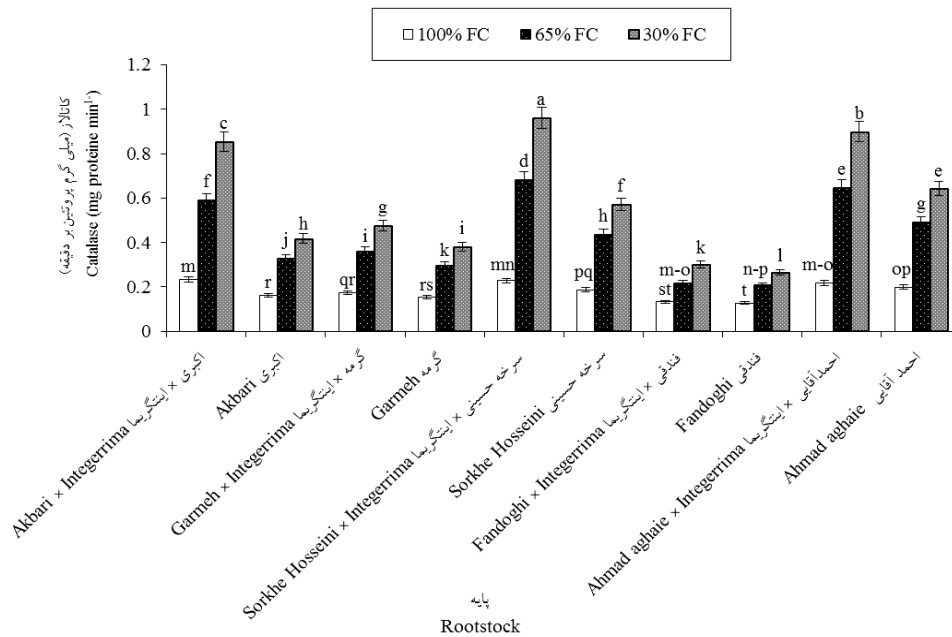
**، * and ^{ns} are significant at $\alpha=0.01$, 0.05 and non-significant.

کاتالاز را نسبت به سایر پایه‌ها نشان دادند. برای این صفت در تنش شدید، پایه هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریمما و فندقی با میانگین ۷۶/۲۷ و ۵۲/۰۷۸ درصد به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان افزایش آنزیم کاتالاز را نسبت به تیمار شاهد در بین پایه‌ها نشان دادند. پایه‌های دانه‌های احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، سرخه‌حسینی، احمد آقایی، گرمه × اینتگریمما، اکبری، گرمه و فندقی × اینتگریمما از لحاظ افزایش این صفت نسبت به شاهد به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند. در پژوهشی پاکزاد و همکاران (۲۰۱۹) روی پسته با ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی نشان دادند که با

بررسی اثر متقابل پایه و خشکی (شکل ۸) نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در همه پایه‌های دانه‌های مورد بررسی از یک روند افزایشی برخوردار بود. در گیاهان شاهد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کم‌ترین مقدار بود در حالی که در سطح آخر خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد به طوری که در این سطح از تنش پایه هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریمما با میانگین ۰/۹۶۱ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه و پایه فندقی با میانگین ۰/۲۶۵ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آنزیم

همکاران (۱۳۹۶) روی پسته مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری هم‌خوانی داشت (۸). هم‌چنین نتایج آزمایش ما با نتایج پژوهش‌های اکبری و همکاران (۱۳۹۴) روی زیتون در ارتباط با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی هم‌خوانی داشت (۲). کاتالاز یک آنزیم تترامر دارای هم بوده که باعث کاتالیز دیسموتاسیون پراکسید هیدروژن به اکسیژن و آب می‌شود (۵۱). این آنزیم به‌طور عمده در میتوکندری، سیتوسول و پراکسی زوم یافت می‌شود و باعث حذف پراکسید هیدروژن (آنزیم اصلی حذف‌کننده پراکسید هیدروژن) اضافی شده که در اثر تنفس نوری و کاتابولسیم پورین‌ها و بتااکسیداسیون اسیدهای چرب تولید می‌گردد. در گیاهان افزایش فعالیت این آنزیم یک ویژگی سازشی است که با کاهش میزان پراکسید هیدروژن حاصل از متابولسیم سلولی از آسیب رسیدن به بافت گیاهی جلوگیری می‌نماید. البته تغییر در فعالیت آنزیم کاتالاز به پایه، متابولیک گیاه، مرحله رشد، طول و شدت تنش نیز وابسته است (۲۵).

افزایش شدت تنش میزان فعالیت این آنزیم به منظور کاهش اثرات مخرب خشکی در پایه‌های مقاوم به میزان بیش‌تری افزایش یافت. طبق گزارش‌های ایشان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک روش مؤثر در حمایت از آسیب‌های سلولی می‌باشد (۴۴). از طرفی نتایج آزمایش حاضر با نتایج فتحی و همکاران (۱۳۹۸) در ارتباط با فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی روی بادام مطابقت نداشت. طبق نتایج پژوهشگران مذکور میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در انتهای تنش در ژنوتیپ‌های حساس بیش‌تر بود که به احتمال زیاد بالا بودن فعالیت این آنزیم ارتباطی با تحمل به خشکی نداشت به دلیل این که این ژنوتیپ‌ها در انتهای تنش شدید خشکی بیش‌تر برگ‌های خود را ریزش دادند. از طرفی در پژوهش حاضر نتایج متفاوتی مشاهده شد به‌طوری‌که ارقام هیبرید سرخه حسینی × ایتگریمما، احمد آقایی × ایتگریمما و اکبری × ایتگریمما با میزان بالای فعالیت آنزیم کاتالاز کم‌ترین میزان ریزش برگ را بین پایه‌ها نشان دادند (۲۰). نتیجه پژوهش حاضر با نتایج باقرزاده و

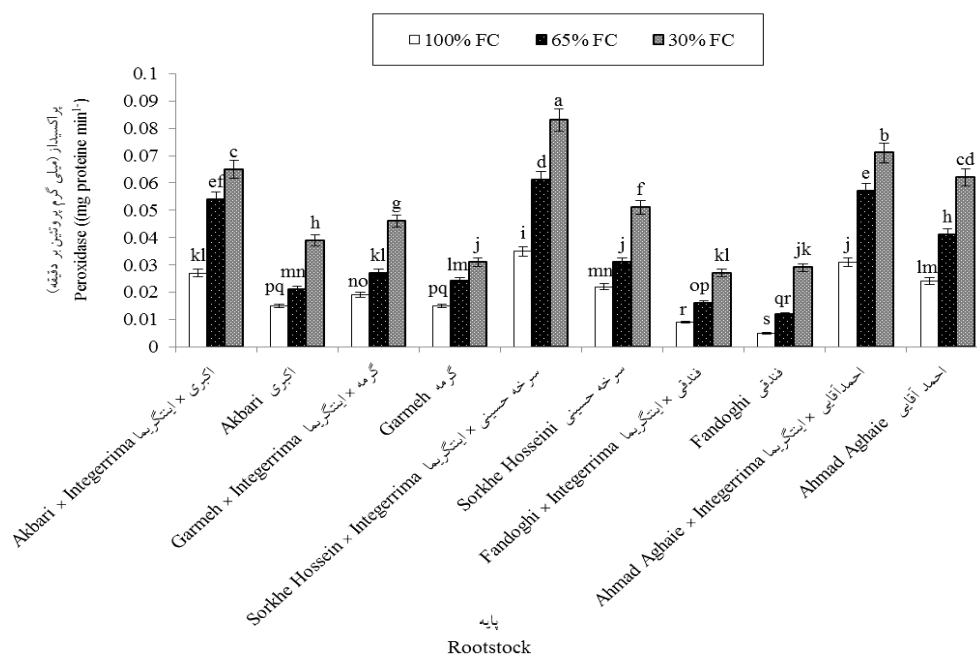


شکل ۸- اثر متقابل پایه و خشکی بر فعالیت کاتالاز ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

Fig. 8. Interaction of rootstock and drought on catalase activity of 10 pistachio seedling rootstocks.

دیگر پژوهشگران نیز گزارش شده است (۳۴، ۱۸). پراکسیداز به عنوان آنزیم تنش معرفی شده است. آنزیم پراکسیداز در گیاهان عالی در برخی از فرآیندهای سلولی مانند مکانیسم دفاعی میزبان، اتصال عرضی پلی ساکاریدهای پکتیکی با استفاده از اسیدهای فنولیک در دیواره سلولی، اتصال عرضی مونومرهای گلیکو پروتئین های غنی از هیدروکسی پرولین موجود در دیواره سلولی و همچنین در عمل چوبی شدن و چوب پنبه ای شدن نقش به سزایی دارد (۲۱). با توجه به اهمیت آنزیم پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در پاک سازی و جاروب گری پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسید و جلوگیری از تنش اکسیداتیو به علت شرایط تنش آبی، به احتمال زیاد افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز هم زمان با فعالیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پایه های هیبرید باعث می شود که اثرات منفی تنش اکسند ناشی از رادیکال های فعال اکسیژن کمتر انجام شود و در نتیجه این پایه ها از مقاومت به خشکی بیشتر برخوردار باشند (۴۹).

اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز: طبق نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرهای ساده و متقابل در مورد میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح یک درصد ($P \leq 0.01$) معنی دار گردید (جدول ۲). بررسی اثر متقابل پایه و خشکی نشان داد که پایه هیبرید سرخه حسینی × ایتگریمما در تیمار شاهد با میانگین (۰/۰۳۵ میلی گرم پروتئین بر دقیقه)، در تیمار تنش ملایم با میانگین (۰/۰۶۱ میلی گرم پروتئین بر دقیقه)، در تنش شدید با میانگین (۰/۰۸۳ میلی گرم پروتئین بر دقیقه) بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را در تمامی سطوح تنش داشت. در حالی که کمترین میزان فعالیت این آنزیم با میانگین ۰/۰۲۷ میلی گرم پروتئین بر دقیقه در پایه فندق در آخرین سطح خشکی مشاهده شد. پایه های پسته احمد آقایی × ایتگریمما، اکبری × ایتگریمما، احمد آقایی، سرخه حسینی، گرمه × ایتگریمما، اکبری، گرمه و فندق × ایتگریمما از لحاظ افزایش این صفت نسبت به شاهد به ترتیب در رده های بعدی قرار گرفتند (شکل ۹). در این پژوهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمامی دانهال ها با پیشرفت تنش خشکی افزایش یافت. چنین نتیجه ای به وسیله

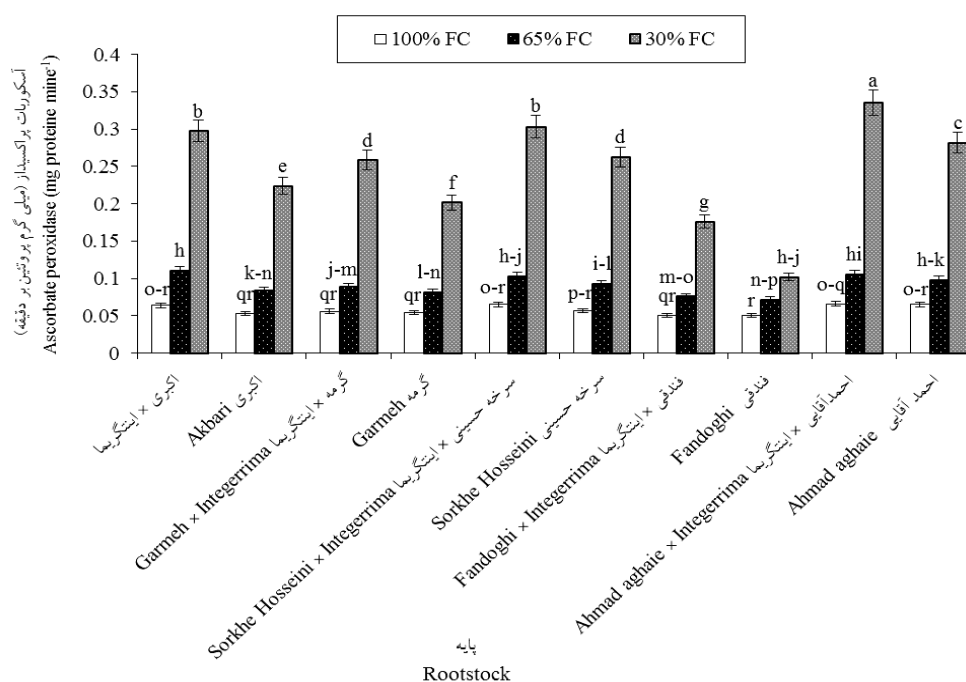


شکل ۹- اثر متقابل پایه و خشکی بر فعالیت پراکسیداز ۱۰ پایه دانهالی پسته.

Fig. 9. Interaction of rootstock and drought on ascorbate peroxidase activity of 10 pistachio seedling rootstocks.

از این رو در از بین بردن تنش اکسایشی مؤثر می‌باشد (۷). در نتیجه هم‌زمان با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش پیدا کرده است (۴۱). بنابراین آنزیم آسکوربات پراکسیداز به عنوان یکی از مهم‌ترین آنتی اکسیدان‌ها در گیاه، منجر به احیای بسیاری از رادیکال‌های آزاد به‌ویژه پراکسید هیدروژن می‌شود و خسارت تنش اکسیداتیو را به کم‌ترین میزان می‌رساند (۳۱). حضور یک راهبرد مهم و مؤثر به منظور تخریب گونه‌های فعال اکسیژن به وسیله آسکوربات پراکسیداز در خشکی متوسط و احتمال نابودی این سامانه در خشکی‌های بالاتر به‌علت افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۱۵). در ارتباط با تنش شوری کامیاب و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که با افزایش سطوح شوری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دانه‌های پسته افزایش یافت که با نتایج ما در ارتباط با افزایش آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر تنش خشکی بر روی دانه‌های پسته مطابقت داشت (۳۲).

اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: بین پایه‌ها، تیمارهای خشکی و اثرات متقابل آن‌ها از نظر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0/01$) مشاهده شد (جدول ۲). بررسی اثر متقابل پایه و خشکی نشان داد که پایه احمد آقایی \times اینتگریمما در سطح شاهد با میانگین ($0/066$ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه)، در تنش ملایم با میانگین ($0/106$ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه)، در تنش شدید با میانگین ($0/336$ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در تمامی سطوح تنش داشت. برای این صفت در تنش شدید نسبت به تیمار شاهد پایه فندقی بیش‌ترین ($50/98$ درصد) کاهش را نشان داد. در ضمن پایه‌های دانه‌های سرخه‌حسینی \times اینتگریمما، اکبری \times اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، گرمه \times اینتگریمما، اکبری، گرمه و فندقی \times اینتگریمما از لحاظ افزایش این صفت نسبت به شاهد به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۱۰). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در حذف پراکسید هیدروژن مانند آنزیم پراکسیداز دخیل می‌باشد. این آنزیم باعث محافظت سلول‌های گیاهی در مقابل آسیب‌های اکسایشی و اکسیداسیون نوری می‌شود. عمل حذف پراکسید هیدروژن توسط آنزیم آسکوربات پراکسیداز به واسطه آسکوربات و به وسیله جاروب کردن^۱ (رفت و برگشت) پراکسید هیدروژن در سیتوپلاسم و کلروپلاست انجام می‌شود. این نقش آسکوربات پراکسیداز با نقش آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مشابه می‌باشد (۲۶). این آنزیم در پاک‌سازی پراکسید هیدروژن دخیل است و



شکل ۱۰- اثر متقابل پایه و خشکی بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز ۱۰ پایه دانه‌های پسته.

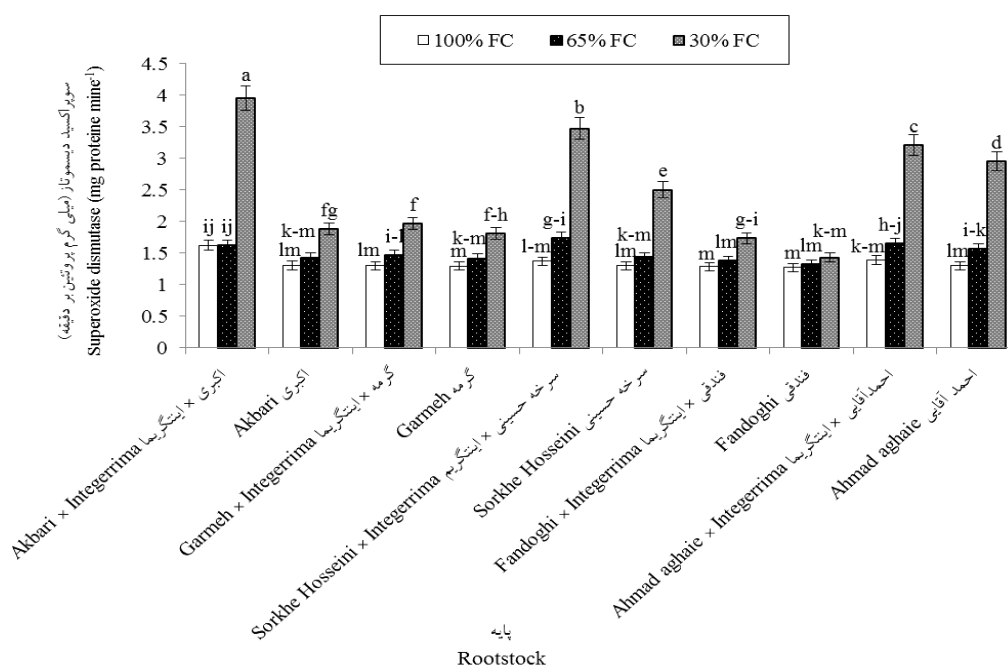
Fig. 10. Interaction of rootstock and drought on ascorbate peroxidase activity of 10 pistachio seedling rootstocks.

دیسموتاز به ترتیب از ثبات بیش‌تری ناشی از تغییرات سطوح خشکی برخوردار بوده‌اند به طوری که میزان آنزیم مربوط به این پایه‌ها در سطح آخر خشکی نسبت به سطح شاهد بیش‌ترین افزایش را نسبت به سایر پایه‌ها داشته است. بنابراین پایه‌های بیان شده نسبت به سایر پایه‌های مورد آزمایش متحمل‌ترین پایه‌ها در برابر خشکی از نظر افزایش میزان تجمع آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند (شکل ۱۱). از طرفی در بین دانه‌ها، پایه فندقی در تیمار شاهد با میانگین ۱/۲۷۲ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه، در تنش متوسط با میانگین ۱/۳۲۶ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه و در تنش شدید با میانگین ۱/۴۳۲ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در تمامی تیمارها بین پایه‌ها نشان داد. اولین خط دفاعی بر علیه رادیکال‌های فعال اکسیژن در سلول توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تشکیل می‌گردد و احیای رادیکال سوپراکسید را به اکسیژن

اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: نتایج تجزیه واریانس حاصل از این پژوهش نشان داد که تیمارهای مربوط به اثر متقابل پایه و خشکی در سطح یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اثر معنی‌داری داشته است ($P \leq 0/01$) (جدول ۲). افزایش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز پایه‌های دانه‌های سرخه‌حسینی × اینتگریم، اکبری × اینتگریم، احمدآقایی × اینتگریم، احمدآقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریم، اکبری، گرمه، فندقی × اینتگریم و فندقی در تنش شدید نسبت به شاهد به ترتیب ۱۵۳/۴۲، ۱۴۳/۵۶، ۱۳۰/۴۱، ۱۲۶/۶۳، ۹۲/۳۱، ۵۱/۰۳، ۴۴/۵۶، ۴۰/۰۶، ۵۴/۳۴، ۱۲/۵۷ درصد بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریم، اکبری × اینتگریم، احمد آقایی × اینتگریم و دو پایه احمد آقایی و سرخه‌حسینی که حاصل تلاقی با دانه گرده اهلی هستند از نظر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید

بنابراین یکی از آنزیم‌های کلیدی برای حفظ شرایط فیزیولوژیکی نرمال سوپراکسید دیسموتاز است که با تنش اکسیداتیو برای تنظیم تراز درون سلولی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) مبارزه می‌کند (۳۹).

مولکولی و پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کند (۲۵). آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز باعث تنظیم غلظت H_2O_2 و O_2^{2-} در سلول می‌شوند و به عنوان یک عامل مهم در سامانه دفاع آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شوند.



شکل ۱۱- اثر متقابل پایه و خشکی بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ۱۰ پایه دانه‌های پسته.

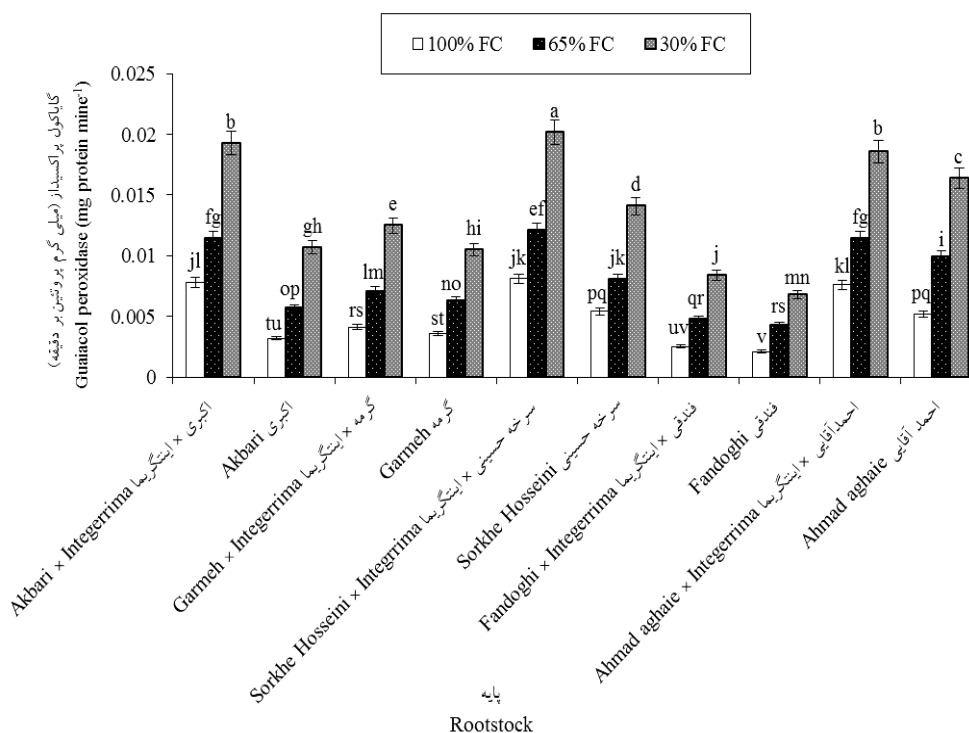
Fig. 11. Interaction rootstock and drought on Superoxide dismutase activity of 10 pistachio seedling rootstocks.

فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد مشاهده شد به طوری که در این سطح از تنش پایه هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریمما با میانگین 0.0202 میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه و پایه فندق با میانگین 0.0068 میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت این آنزیم را نسبت به سایر پایه‌ها نشان دادند. پایه‌های دانه‌های اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریمما، اکبری، گرمه و فندق × اینتگریمما از لحاظ افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نسبت به شاهد در آخرین سطح خشکی به ترتیب در

اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: بین پایه‌ها، تیمارهای خشکی و اثرات متقابل آن‌ها از نظر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.01$) مشاهده شد (جدول ۲). بررسی اثر متقابل پایه و خشکی (شکل ۱۲) نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در پایه‌های دانه‌های مورد بررسی با شدت متفاوتی افزایش یافت. طبق نتایج در تمامی پایه‌ها در گیاهان شاهد میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کم‌ترین مقدار بود در حالی که با افزایش سطوح خشکی بیش‌ترین میزان

نابودی پراکسید هیدروژن را عهده‌دار هستند افزایش پیدا نکنند در سلول و اندام‌های گیاهی میزان پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد و باعث آسیب فراوان به گیاه می‌شود. از طرفی آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از اکسیداسیون گایاکول، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن مولکولی احیا کرده و اثر رادیکال‌های آزاد را به‌طور کامل خنثی می‌کند (۴۹). بنابراین این آنزیم از اکسیداسیون ترکیبات فنولی مانند گایاکول، برای تجزیه آب اکسیژنه و سم‌زدایی استفاده می‌کند و منجر به افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی می‌گردد (۱).

رده‌های بعدی قرار گرفتند. سیفی‌زاده و رشیدی (۲۰۱۰) در مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در چغندر قند انجام دادند گزارش کردند که تنش خشکی منجر به افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز می‌شود (۴۸). نتایج ما با پژوهش‌های مشابه همسو می‌باشد و با افزایش سطوح خشکی میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافت؛ در واقع آنزیم گایاکول پراکسیداز مکمل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در رفع کامل رادیکال‌های آزاد است و اگر متناسب با افزایش سطوح تنش میزان آنزیم‌هایی که مسؤلیت



شکل ۱۲- اثر متقابل پایه و خشکی بر فعالیت گایاکول پراکسیداز ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

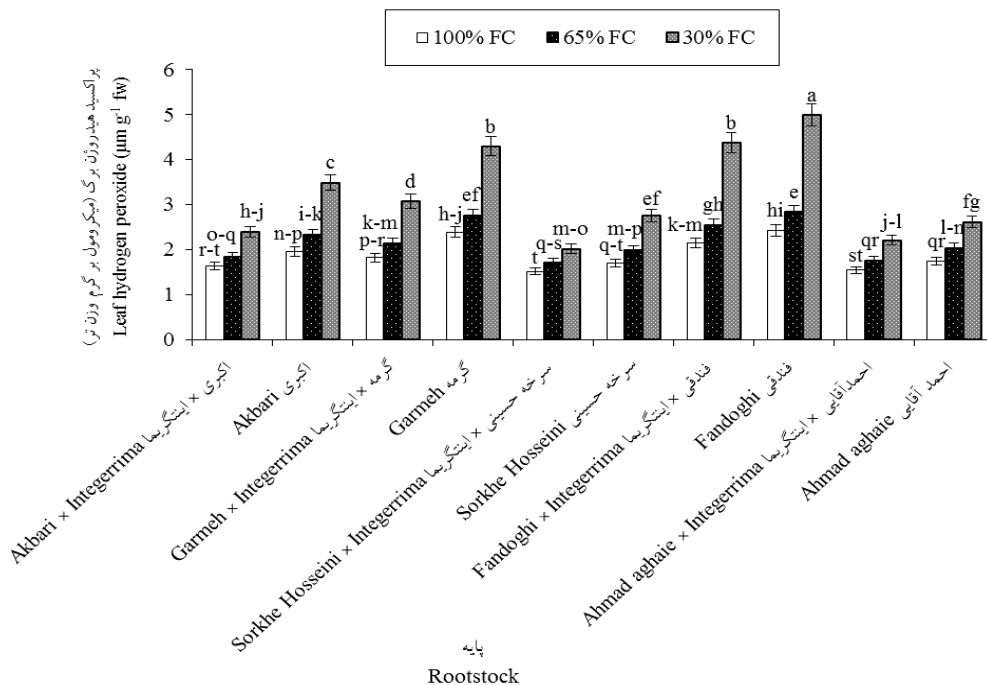
Fig. 12. Interaction of rootstock and drought on activation of guaiacol peroxidase of 10 pistachio seedling rootstocks.

نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان پراکسید هیدروژن ریشه مانند پراکسید هیدروژن برگ در همه پایه‌های دانه‌الی مورد بررسی از یک روند افزایشی برخوردار بود. البته میزان افزایش پراکسید هیدروژن در ریشه به میزان کم‌تری نسبت به برگ مشاهده شد که نشان‌دهنده این است که سیستم ریشه به میزان کم‌تری در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو قرار دارد. در گیاهان شاهد میزان این صفت کم‌ترین مقدار بود در حالی که در سطح آخر خشکی بیش‌ترین میزان پراکسید هیدروژن ریشه نسبت به شاهد مشاهده شد به‌طوری‌که پایه هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریمما با میانگین ۲۱/۹۷ درصد کم‌ترین افزایش از لحاظ این صفت را نسبت به شاهد در بین تمامی دانه‌الی مورد آزمایش نشان داد. بر اساس نتایج پایه فندقی در تیمار شاهد با میانگین ۲/۱۱۵، در تنش متوسط با میانگین ۲/۴۶۳ و در تنش شدید با میانگین ۳/۸۷۳ میکرومول بر گرم وزن تر بیش‌ترین میزان پراکسید هیدروژن ریشه را در تمامی سطوح تنش نشان داد به‌طوری‌که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد با میانگین ۸۳/۱۲ درصد بیش‌ترین افزایش از لحاظ این صفت را نسبت به سایر پایه‌ها نشان داد و حساس‌ترین پایه از لحاظ این صفت ارزیابی شد. در ضمن پایه‌های دانه‌الی احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریمما، گرمه، اکبری و فندقی × اینتگریمما از لحاظ کاهش کم‌تر این صفت در رده‌های بعدی قرار گرفتند. افزایش و تجمع گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن یکی از پدیده‌های شایع طی پاسخ گیاهان به شرایط تنش‌زای محیطی می‌باشد. گونه‌های اکسیژن فعال با توجه به غلظت آن‌ها در داخل سلول دارای اثر دوگانه تحت شرایط تنش

اثر تنش خشکی بر میزان تجمع پراکسید هیدروژن برگ و ریشه: بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس، تمامی اثرهای ساده و متقابل در مورد میزان فعالیت پراکسید هیدروژن برگ و ریشه در سطح یک درصد ($P \leq 0.01$) معنی‌دار گردید (جدول ۲). همان‌طور که نتایج نشان داد بین پایه‌ها از نظر میزان پراکسید هیدروژن برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. طبق این نتایج تیمار خشکی باعث شد که دانه‌الی تحت تنش میزان پراکسید هیدروژن برگ بالاتری نسبت به گیاهان بدون تنش تولید کنند. در بررسی اثر متقابل پایه و خشکی (شکل ۱۳). میزان افزایش غلظت پراکسید هیدروژن برگ پایه‌های پسته احمد آقایی، احمد آقایی × اینتگریمما، فندقی، فندقی × اینتگریمما، سرخه‌حسینی، سرخه‌حسینی × اینتگریمما، گرمه، گرمه × اینتگریمما، اکبری و اکبری × اینتگریمما در تنش شدید نسبت به شاهد به ترتیب ۴۹/۹۱، ۴۳/۳۵، ۱۰۶/۱۱، ۱۰۳/۲۰، ۶۳/۱۷، ۳۳/۰۶، ۸۰/۲۱، ۶۹/۲۰، ۷۸/۸۵، ۴۶/۷۵ درصد بود. بنابراین پایه‌های سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما و احمد آقایی به واسطه مقادیر پایین پراکسید هیدروژن برگ نسبت به سایر دانه‌الی مورد آزمایش متحمل‌ترین پایه‌ها در برابر خشکی از نظر این صفت بودند. پایه‌های دانه‌الی سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریمما، اکبری، گرمه، فندقی × اینتگریمما و فندقی از لحاظ این صفت به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند. بنابراین دو پایه فندقی و فندقی × اینتگریمما به واسطه مقادیر بالای پراکسید هیدروژن برگ نسبت به سایر پایه‌های دانه‌الی تحت تنش حساس‌ترین پایه‌ها در برابر خشکی از لحاظ این صفت بودند. در ارتباط با میزان پراکسید هیدروژن ریشه، بررسی اثر متقابل پایه و خشکی (شکل ۱۴)

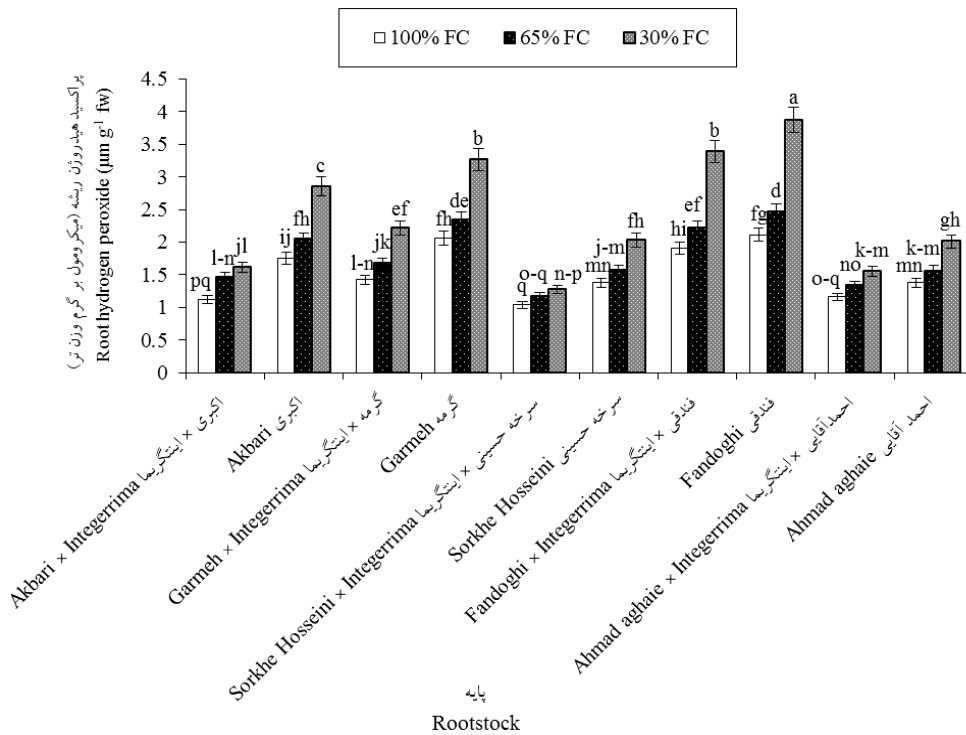
با استفاده از پراکسید لیپیدها و آسیب به ساختار پروتئین باعث تسریع پیری برگ گیاهان می‌گردد (۵۴). با توجه به نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، تنش خشکی سبب افزایش پراکسید هیدروژن در هر ۱۰ پایه مورد بررسی در این پژوهش شد، به‌طوری‌که در سطح آخر خشکی، بیش‌ترین مقدار پراکسید هیدروژن برگ و ریشه را پایه فندق و کم‌ترین میزان پراکسید هیدروژن برگ و ریشه را پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما و احمد آقایی × اینتگریمما در بین پایه‌ها به خود اختصاص دادند. افزایش رادیکال پراکسید هیدروژن تحت شرایط تنش خشکی روی پسته (۱۹) و زیتون (۴۶) گزارش شده که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

می‌باشند، به طوری‌که در غلظت‌های پایین به عنوان سیگنال عمل نموده و باعث القاء و تحریک پاسخ‌های مقاومتی در گیاهان می‌گردد و بالعکس افزایش بالای غلظت گونه‌های اکسیژن فعال باعث آسیب اکسیداتیو به بسیاری از ترکیبات و ساختارهای سلولی، اختلال در فعالیت‌های متابولیکی و در نهایت مرگ سلول می‌گردد، مگر آن‌که اثر سمیت گونه‌های اکسیژن فعال به طور کامل از محل‌های تولید شده محو شود (۱۶). بر اساس نتایج کولین (۲۰۱۹) پراکسید هیدروژن فرآورده سمی تولید شده در گیاهان در شرایط تنش اکسیداتیو می‌باشد که به عنوان یک اکسیدکننده قوی ایفای نقش می‌کند. پراکسید هیدروژن پایدارترین رادیکال آزاد در شرایط تنش است و قادر به نفوذ سریع به سراسر غشاء سلولی می‌باشد (۱۳). تنش خشکی با تولید پراکسید هیدروژن در ساختار سلولی



شکل ۱۳- اثر متقابل پایه و خشکی بر میزان پراکسید هیدروژن برگ ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

Fig. 13. Interaction of rootstock and drought on leaf hydrogen peroxide of 10 pistachio seedling rootstocks.



شکل ۱۴- اثر متقابل پایه و خشکی بر میزان پراکسید هیدروژن ریشه ۱۰ پایه دانه‌الی پسته.

Fig. 14. Interaction of rootstock and drought on root hydrogen peroxide of 10 pistachio seedling rootstocks.

دانه‌الی‌های پسته در شرایط تنش دارند. هم‌چنین بین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با صفت ریزش برگ کم‌ترین همبستگی منفی معنی‌دار (۰/۰۲ درصد) مشاهده شد. در واقع با افزایش سطوح تنش خشکی فعالیت بیش‌تر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از ریزش برگ به میزان بالایی جلوگیری می‌کند. از طرفی برگ‌ها مهم‌ترین اندام‌های فتوسنتز گیاهان هستند که واکنش سریع و حساس نسبت به تغییرات محیطی از خود نشان می‌دهند. بنابراین، پاسخ ویژگی‌های عملکردی برگ و فعالیت‌های آنزیمی می‌تواند سازوکارهای انطباق‌پذیری ویژه گیاهان را در شرایط خاص محیطی نشان دهد.

همبستگی صفات مورد بررسی: ضرایب همبستگی صفات تحت بررسی در جدول ۳ نشان داد که بین صفات مختلف، همبستگی مثبت و منفی معنی‌دار وجود دارد، به‌طوری‌که بین صفت تعداد برگ با طول ساقه بیش‌ترین همبستگی مثبت و معنی‌دار (۹۶ درصد) در بین صفات نسبت به هم وجود داشت. در واقع تعداد برگ‌ها به تعداد نقاط رشد و طول زمانی که در طی آن برگ‌ها به وجود می‌آیند، بستگی دارد (۳۳). در بین آنزیم‌ها نیز آنزیم گایاکول پراکسیداز با آنزیم پراکسیداز همبستگی مثبت و معنی‌دار بالایی (۹۵ درصد) نشان داد. این دو آنزیم نقش کلیدی در پاک‌سازی میزان پراکسید هیدروژن برگ و ریشه در

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در پایه‌های دانه‌های پسته.

Table 3. The correlation coefficients between the measured traits in pistachio seedlings.

	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	صفات Traits
هیدروژن پراکسید ریشه Root hydrogen peroxide												تعداد برگ Number of leaves
هیدروژن پراکسید برگ Leaf hydrogen peroxide												ریزش برگ Leaf fall
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase												طول ساقه Stem length
سوپراکسید دیسمو تاز Superoxide dismutase												قطر ساقه Stem diameter
آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase												کاتالاز Catalase
پراکسیداز Peroxidase												1
1												1
2												1
3												1
4												1
5												1
6												1
7												1
8												1
9												1
10												1
11												1

** , * and ^{ns} are significant at $\alpha=0.01$, 0.05 and non-significant.

^{ns} و ^{*} به ترتیب معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی دار.

نتیجه‌گیری کلی

نسبت به شاهد برخوردار بودند که این امر موجب کاهش خسارات اکسیداتیوی در اثر تنش خشکی می‌شود. از طرفی پایه‌های حساس مورد بررسی به‌ویژه فندقی به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های مذکور و افزایش میزان پراکسید هیدروژن و ریزش برگ بیش‌تر در شرایط تنش خشکی از تحمل کم‌تری برخوردار بودند. به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی، به نظر می‌رسد بتوان از پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × ایتگریمما، احمد آقایی × ایتگریمما و اکبری × ایتگریمما به عنوان پایه‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح ارقام با پتانسیل عملکرد زیاد در مناطق خشک استفاده کرد. البته لازم است در آینده پیوند ارقام مختلف روی این پایه‌ها انجام و مقاومت پایه‌های پیوندی و رفتار پیوندک نسبت به سطوح مختلف خشکی مورد ارزیابی قرار گیرد. از طرف دیگر موارد متعددی در انتخاب یک پایه برای این منظور تأثیرگذارند.

به طور کلی بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که افزایش سطوح خشکی منجر به افزایش میزان پراکسید هیدروژن برگ و ریشه و در نتیجه فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی در پایه‌های دانه‌الی مورد بررسی به‌منظور حذف و خنثی کردن میزان تولید رادیکال‌های آزاد گردید. طبق نتایج با افزایش سطوح خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تنش شدید نسبت به شاهد با شدت متفاوت در تمامی پایه‌ها افزایش یافت. از طرفی با افزایش تنش خشکی صفات تعداد برگ، طول و قطر ساقه کاهش و میزان ریزش برگ نسبت به شاهد افزایش یافت. در این پژوهش، پایه‌های هیبرید سرخه‌حسینی × ایتگریمما، احمد آقایی × ایتگریمما و اکبری × ایتگریمما نسبت به سایر پایه‌ها متحمل‌تر به خشکی تشخیص داده شدند که از میزان پراکسید هیدروژن و ریزش برگ کم‌تر و از طرفی سطوح بالاتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و خصوصیات رشدی مطلوب در آخرین سطح خشکی

منابع

1. Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H. and Abdol-Wahhab, M. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *J. Plant Physiol.* 169: 704-709.
2. Akbari, V., Jalili Marandi, R. and Farrukhzad, A. 2015. The effect of cycocel on antioxidant activity and the amount of malondialdehyde in olive cultivars (*Olea europaea* L.) under drought stress. *J. Plant Pro Function.* 15: 2. 121-135. (In Persian)
3. Aliakbarkhani, S.T., Farajpour, M., Asadian, A.H., Aalifar, M., Ahmadi, S. and Akbari, M. 2017. Variation of nutrients and antioxidant activity in seed and exocarp layer of some Persian pistachio genotypes. *Ann. Agric. Sci.* 62: 39-44.
4. Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr. J. Agric. Res.* 6: 2026-2032.
5. Araus, J.L., Casadesus, J., Bort, J., Nachit, M.M., Villegas, D., Aparicio, N. and Royo, C. 2015. Some remarks on ecophysiological traits for breeding CIHEAM-options Mediterraneanes. 40: 57-62.
6. Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 50: 601-639.
7. Ashraf, M.A., Rasheed, R., Hussain, I., Iqbal, M., Haider, M.Z., Parveen, S. and Sajid, M.A. 2015. Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and

- nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. Arch. Agron. Soil Sci. 61: 4. 507-523.
8. Baqerzadeh, A., Kavousi, H., Khezri, M. and Mirzayee, S. 2017. Study of protein expression pattern and some morphological and biochemical characteristics in pistachio roots of white almond and almonds in Zarand under salinity stress. Agric. Biotechnol. 8: 16-32. (In Persian)
 9. Ben Hamed, S., Lefi, E. and Chaieb, M. 2016. Physiological responses of *Pistacia vera* L. versus *Pistacia atlantica* Desf. to water stress conditions under arid bioclimate in Tunisia. J. Sci Hort. 203: 224-230.
 10. Besharat, N., Tajabadipoor, E. and Mozafari, V. 2014. The effect of phosphorus and water stress on growth, some water relations and concentration of pistachio seedling elements in greenhouse conditions. J. Agric. Sci. Technol. Nat. Resour. Soil Water Sci. 18: 67. 339-354. (In Persian)
 11. Chance, B. and Maehly, A. 1995. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymol. 2: 764-775.
 12. Chehrgani Rad, A., Khorzeman, N., Larry Yazdi, H. and Shirkhani, Z. 2016. Changes in vegetative traits and physiological indicators of bean plants under stress in the hydroponic culture medium. J. Dev. Biol. 8: 2. 31-39. (In Persian)
 13. Collin, F. 2019. Chemical Basis of Oxygen Species Reactivity and Involvement in Neurodegenerative Diseases. Int. J. Mol. Med. Sci. pp. 1-17.
 14. Couceiro, J.F., Guerrero, J., Gijon, M.C., Moriana, A., Perez-Lopez, D. and Rodriguez, M. 2013. El Cultivo Del Pistachio. MundiPrensa, Madrid.
 15. Cyrus Mehr, A., Bardelle, J. and Mohamadi, S. 2014. Changes in germination characteristics, Photosynthetic pigments and the activity of antioxidant enzymes safflower affected by drought and salinity. J. Eco Crop Plant. 8: 4. 517-534. (In Persian)
 16. Dat, I.F., Lopez-Delgado, H., Foyer, C.H. and Scott, I.M. 1998. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermos tolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. J. Plant physiol. 116: 4. 1351-1357.
 17. De Campos, M.K.F., De Carvalho, K., De Souza, F.S., Marur, C.J., Pereira, L.F.P., Filho, J.C.B. and Vieira, L.G.E. 2011. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic "Swingle" citrumelo plants overaccumulating proline. J. Environ. Exp. Bot. 72: 242-250.
 18. Ebrahimi, F., Hassani, K., Alami, A. and Rezaadoost, M.H. 2015. Effects of drought stress on morphological characteristics and activities of antioxidant enzymes of two varieties of Rapeseed (*Brassica napus* L.). J. Plant Pro Function. 14: 2. 77-91. (In Persian)
 19. Fahimi Khoyardi, F., Shamshiri, M.H. and Estaji, A. 2016. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. J. Sci. Hort. 198: 44-51.
 20. Fathi, H., Imani, A., Amiri, M.A., Hajilo, J. and Nikbakht, J. 2019. Growth and biochemical responses of some almond genotypes based on GN15 to low irrigation stress. J. Plant Pro Function. 8: 29. 15-30. (In Persian)
 21. Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro M., Lwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M. and Shimomura, L. 2017. "Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome." J. CI Insight. 114: 12. 1752-1761.
 22. Ghasemi, M., Arzani, K., Yadollahi, A. and Hokmabadi, H. 2013. Drought stress and carbon isotope discrimination in some pistachio seedlings. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares Tehran Univ. (In Persian)
 23. Ghobadi, M., Taherabadia, S., Ghobadi, M.E., Mohammadi, G.H.R. and JalaliHonarmand, S. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. J. Ind. Crops Prod. 50: 29-38.

24. Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *J. plant physiology*. 59: 2. 14-309.
25. Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *J. Plant Biochem. Physiol*. 48: 909-930.
26. Gupta, N.K., Gupta, S. and Kumar, A. 2001. Effect of water stress on physiological attributes and their relationship with growth and yield of wheat cultivars at different stages. *J. Agron. Crop Sci*. 186: 1. 55-62.
27. Heidari, M. 2016. Evaluation of vegetative growth and some physiological characteristics in pistachio controlled crosses "*P. integririma* × *P. vera*" grown in various NaCl salinity. Master Thesis. Shahed Univ, Tehran. (In Persian)
28. Huseynova, I.M. 2012. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. *Biochim Biophys. Acta Bioenerg*. 817: 1516-1523.
29. Imam, Y. and Niknejad, M. 2004. An Introduction to Plant Physiology. Shiraz Univ Press, Iran. 571p. (In Persian)
30. In, B.C., Motomura, S., Inamoto, K., Doi, M. and Mori, G. 2007. Multivariate analysis of relation between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut Asomi Red Roses. *Japan Society for Hort. Sci*. 76: 66-72.
31. Kafi, M., Borzooei, A., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, J. 2009. Physiology of environmental stresses in plants, First Edition, Univ Jahad Publish, Mashhad Ferdow Univ, 502p. (In Persian)
32. Kamiab, F., Talaie, A., Khezri, M. and Javanshah, A. 2013. Exogenous application of free polyamines enhances salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *J. Plant Growth Regul*. 72: 257-268.
33. Koocheki, A. 1997. Production and improvement of crops for dryland. Mashhad Univ Press. 302p. (In Persian)
34. Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B. and Amiri, R. 2010. Soluble sugars and proline accumulation play a effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. *J. Plant Sci*. 65: 97-112.
35. Luck, H. 1974. In: Methods in Enzymatic Analysis (ed. Bergmeyer, H.) 885p. Academic Press. New York.
36. Maleki Kuhbani, A. and Karimi, H.M. 2013. Evaluation of pistachio and hybrids rootstocks (*P. vera* × *P. atlantica*) to drought stress. *Iran. J. Hort. Sci. Technol*. 44: 1. 81-93. (In Persian)
37. Manivannan, P., Abdul Jaleel, C., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2008. Osmoregulation and Antioxidant Metabolism in Drought-stressed *Helianthus annuus* under Triadimefon Drenching. *C R Biol*. 331: 418-425.
38. Mirzaei, J., Akbari Nia, M., Mohammadi Gol Tappeh, E., Sharifi, M. and Rezaei Danesh, Y. 2009. The effect of arbuscular mycorrhizal fungi on some morphological and physiological characteristics of khenjuk seedlings (*P. khinjuk*) under drought stress. *J. Iran For Spruce Res*. 19: 2. 291-300. (In Persian)
39. Mittler, R. 2002. Oxidative stress. Antioxidant and stress tolerance. *J. Tren in Plant Sci*. 7: 405-415.
40. Moazzam Jazi, M., Seyedi, S.M., Ebrahimie, E., Ebrahimi, M., De Moro, G. and Botanga, C. 2017. A genome-wide transcriptome map of pistachio (*Pistacia vera* L.) Provides novel insights into salinity-related genes and marker discovery. *BMC Genom*. 18, 627.
41. Mohamadi, H., Imani, A. and Momenpour, A. 2014. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on Morphological characteristics, Physiological and biochemical selection of almond cultivars. *J. Mod. Sci. Sustain. Agric*. 10: 2. 53-63. (In Persian)

42. Moriana, A., Memmib, H., Centeno, A., Martin-Palomo, M.J., Corell, M., Torrecillas, A. and Perez-Lopez, D. 2018. Influence of root stock on pistachio (*Pistachio vera* L cv Kerman) water relations. *J. Agric Water Manag.* pp. 1-194.
43. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *J. plant cell physiol.* 22: 5. 867-880.
44. Pakzad, R., Fatehi, F., Kalantar, M. and Maleki, M. 2019. Evaluating the antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proteomic profile changing in UCB-1 pistachio rootstock leaf under drought stress. *J. Sci. Hort.* 256 (108617).
45. Parfitt, D., Kallsen, C. and Maranto, J. 2005. The orchard pistachio cultivars. in: UC Fruit and Nut Res Public, California. USA.
46. Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. and Giannakoula, A. 2012. Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *J. Plant Biochem. Physiol.* 60: 1-11.
47. Ramezani Vishki, F. 2015. Oxidative stress and the reaction of plants to it. *J. Biol.* 26: 4. 22-25. (In Persian)
48. Sayfzadeh, S. and Rashidi, M. 2010. Effect of drought stress on antioxidant enzyme activities and root yield of sugar beet (*Beta vulgaris*). *J. Agric. Environ. Sci. Abbrviat.* 9: 223-230.
49. Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessaraki, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* 26p.
50. Shibairo, S.I., Upadhyaya, M.K. and Toivonen, P.M.A. 1998. Influence of preharvest water stress on postharvest moisture loss of carrot (*Daucus carota* L.). *J. Hort. Sci. Biotec.* 73: 347-352.
51. Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. and Vitti, A. 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *J. Mole Sci.* 16: 13561-13578.
52. Torrecillas, A., Alarcon, J.J., Domingo, R., Planes, J. and Sanches, M.J. 1996. Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. *J. Plant Sci.* 118: 135-143.
53. Uddin, G., Rauf, A., Rehman, T. and Qaisar, M. 2011. "Phytochemical Screening of *Pistacia chinensis* var. *integerrima*". *Middle-East J. Sci. Res.* 5: 707-711.
54. Upadhyaya, H., Khan, M. and Panda, S. 2007. Hydrogen peroxide induces oxidative stress in detached leaves of *Oryza sativa* L. *Gen. Appl. J. Plant Physiol.* 33: 83-95.
55. Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidative systems in acid rane treated bean plants. *J. Plant Sci.* 51: 59-99.
56. Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. and Kwak, S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *J. Plant Biochem. Physiol.* 47: 570-577.
57. Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Camp, W. 2009. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defense in C3 plants. *J. EMBO.* 16: 16. 4806-4816.
58. Zabet, M. and Hosseinzade, A.E.H. 2011. Determining the most important traits affecting the performance of mung bean (*Vigna radiata*) using multivariate statistical methods in dry and stress-free conditions. *J. Iran Bean Res.* 2: 1. 87-98. (In Persian)
59. Zafari, S., Niknam, V., Musetti, R. and Noorbakhsh, S.N. 2012. Effect of phytoplasma infection on metabolite content and antioxidant enzyme activity in lime (*Citrus aurantifolia*). *Acta Physiol. Plant.* 34: 2. 561-568.

