مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۸ شماره ۱ صفحه‌های ۸۱ تا ۸۸ (۱۳۹۶)

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تغییرهای ریخت‌شناسی در برخی گلابی‌های پررشد آلوده به باکتری عامل بیماری آتشک در شرایط درون‌شیشه‌ای[1]

Study of Antioxidant Enzymes Activity and Morphological Changes in Some Vigorous Pears Inoculated with Cause of Fire Blight Disease *(Erwinia amylovora) In vitro* Conditions

معصومه منصوریار، حمید عبداللهی، جواد عرفانی مقدم و سیدعلیرضا سلامی[2]

چکیده

باکتری *Erwinia amylovora* عامل بیماری آتشک و یکی از مهم‌ترین عامل‌های خسارت در باغ‌های درختان میوه‌ی دانه‌دار می‌باشد. تاکنون، استفاده از رقم‌ها و پایه‌های مقاوم به‌عنوان مهم‌ترین روش مبارزه با این باکتری معرفی شده است. این پژوهش، با هدف ارزیابی مقدار مقاومت و بررسی تغییرهای زیست‌شیمیایی انگیخته شده، در چهار پایه پابلند گلابی شامل پایه‌های کنجونی، *Pyrus betulifolia*، درگزی و پایه Gh1، در شرایط درون شیشه‌ای، اجرا شد. بدین منظور، ریزنمونه‌های هر چهار پایه با آمیخته‌ای از سویه‌های باکتری *E. amylovora*، مایه‌زنی شدند. تغییرهای ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی ایجاد شده در پایه‌ها، در فاصله‌های زمانی هر ۲۴ ساعت و در مدت ۴ روز بررسی شدند. بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده، پایه‌های درگزی و *P. betulifolia* در شرایط درون‌شیشه‌ای، مقاوم‌تر از دو پایه دیگر بودند و کم‌ترین درصد بافت‌مردگی را نشان دادند، هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مانند پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز، در این دو پایه بیش از پایه‌های کنجونی و Gh1 بود. پایه درگزی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بیش‌تری داشت، در حالی‌که در پایه‌ی *P. betulifolia* آنزیم پراکسیداز از فعالیت بیش‌تری برخوردار بود. در مجموع بر اساس نتیجه‌های این پژوهش می‌توان پایه‌های درگزی و *P. betulifolia* را به‌ترتیب به‌عنوان پایه‌های مقاوم و نیمه مقاوم و پایه‌ی کنجونی را به‌عنوان حساس‌ترین پایه، به بیماری آتشک معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز، درگزی، *P. betulifolia*.

مقدمه

بیماری آتشک[3] ناشی از باکتری *Erwinia amylovora*، دارای گستره میزبانی گسترده‌ای در تیره وردسانان می‌باشد و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های درختان میوه دانه‌دار به‌شمار می‌آید. این بیماری بومی آمریکای شمالی است (۲۴) و در بسیاری از کشورهای دنیا در میزبان‌های گوناگون سیب و گلابی گزارش شده است (۱۷). نشانه‌های بیماری برای نخستین بار در ایران، از منطقه برغان کرج و در گلابی گزارش شد (۴). نخستین

۱- تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۶

۲- به ترتیب، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، دانشگاه ایلام، دانشیار پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، استادیارگروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ایران.

*نویسنده مسئول، ایمیل: (m.mansouryarm@gmail.com).

۳- Fire Blight

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

نشانه‌های بیماری در فصل بهار به‌صورت سوختگی شکوفه‌ها نمایان می‌شود و به‌تدریج با آلوده شدن شمار زیادی از شاخه‌ها به همراه برگ‌های خشک شده، درخت ظاهری آتش گرفته به خود می‌گیرد (۲۵). در سال‌های پیش، تلاش‌هایی در زمینه‌ی مبارزه زیستی با این بیماری صورت گرفته است و گاهی این روش‌ها حدود ۵۰ تا ۸۰ درصد در کنترل بیماری مؤثر بوده‌اند (۱۶، ۸). اما با توجه به این‌که همیشه پیشگیری بهتر از درمان است، به نظر می‌رسد شناسایی و استفاده از رقم‌های مقاوم، به‌دلیل کاهش هزینه‌های مبارزه با بیماری، توجیه اقتصادی مناسب‌تری داشته باشد. در پژوهشی که در سال ۱۳۸۴ در کشور و روی ۴۳ رقم گلابی انجام شد، همه رقم‌های مورد بررسی در گروه حساس و نیمه حساس به بیماری آتشک قرار گرفتند و رقم مقاومی یافت نشد (۳). در بررسی‌های پسین سه رقم درگزی، هراسوییت و نطنزی به عنوان رقم‌های مقاوم شناسایی و معرفی شدند (۷) که در این بین، رقم درگزی از رقم‌های گلابی بومی ایران می‌باشد (۹). با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته بیشتر رقم‌های مقاوم، از گروه گلابی‌های آسیایی و گلابی *Pyrus ussuriensis* هستند (۱۸، ۱۱). باوجود شناسایی رقم‌های مقاوم، به بررسی سازوکارهای مقاومت در سطح زیست‌شیمیایی و شاخص‌های نشانگانی وابسته به مقاومت نیز باید توجه کرد. برای نمونه، در سیب‌های بومی ایران، ویژگی درصد چوبی شدن شاخساره به عنوان مهم‌ترین ویژگی نشانگانی وابسته به مقاومت به بیماری آتشک، معرفی شده است (۶).

در زمان حمله باکتری، گیاه میزبان با انجام راهبردهای دفاعی، از خود مقاومت نشان می‌دهد و گروه‌های فعال اکسیژن[۱] به ویژه سوپراکسید و هیدروژن پراکسید به‌وسیله گیاه میزبان در محل حمله تولید می‌شوند. تولید این رادیکال‌های آزاد رویدادی طبیعی است، چراکه در جریان واکنش‌های طبیعی یاخته‌ها از جمله تنفس و اکسید شدن ماده‌ها به وجود می‌آیند، اما مقدار تولید آن در شرایط تنش افزایش می‌یابد. گروه‌های فعال اکسیژن هم‌چنان که مانند سدی در برابر عامل بیماری‌زا عمل می‌کنند، از طرفی باعث اکسید شدن لیپیدها، پروتئین‌ها، نوکلئیک اسید و تخریب غشای یاخته‌ای و درنهایت مرگ بافت نیز می‌شوند (۱۹).

با توجه به گونه گیاهی، سازوکارهای ضداکسایشی برای کاهش اثرهای بد گروه‌های فعال اکسیژن، در گیاه میزبان وجود دارد. این سازوکارها شامل بروز تغییرها در مقدار ترکیب‌های آنتی اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد. از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی می‌توان به کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و آنزیم فنیل آلانین آمونیو لایز (PAL) اشاره نمود (۲۱). هیدروژن پراکسید در حضور رادیکال سوپراکسید، رادیکال بسیار فعال هیدروکسیل را تولید می‌کند، بنابراین خنثی کردن هیدروژن پراکسید برای بقای یاخته بسیار مهم است (۱۵). کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در درون یاخته و در آپوپلاست، تجزیه‌ی هیدروژن پراکسید را بر عهده دارند (۲۲). واکنش‌های آنزیمی گیاهان در پاسخ به بیماری‌زاهای مختلف، متفاوت است. مقدار آنزیم پراکسیداز در میوه‌های گلابی تیمار شده با قارچ *Penicillium expansum* افزایش یافت (۱۲)، هم‌چنین در سیب‌های تیمار شده با باکتری *Pseudomonas fluorescens* نیز افزایش در مقدار آنزیم پراکسیداز مشاهده شده است (۲). امروزه با بهره‌گیری از روش‌های دانش زیست فناوری می‌توان گیاهان تراریخته‌ای که چندین سازوکار دفاعی را با هم داشته باشند، تولید نمود، برای مثال، گلابی‌های تراریخته‌ای با ژن فریتین نخود، تولید شده‌اند که مقاومت بیش‌تری نسبت به بیماری آتشک دارند (۱۳). بنابراین شناسایی رقم‌های مقاوم و ارزیابی سازوکارهای دفاعی موجود در آن‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد.

هدف از انجام این پژوهش، بررسی مقدار مقاومت در ریزنمونه‌های آلوده به باکتری *E. amylovora* و اندازه‌گیری روند تغییرها در برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز موجود در چهار پایه گلابی شامل پایه‌های کنجونی، *P. betulifolia*، درگزی و پایه‌ی Gh1 و شناسایی

۱- Reactive oxygen species

۲- Phenylalanine ammonialyse

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

مقاوم‌ترین پایه نسبت به باکتری *E. amylovora* بود. به منظور اجرای آزمایش‌های مدنظر، از فن کشت بافت استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴، به‌صورت آزمایش فاکتوریل (عامل پایه در چهار سطح، عامل زمان در چهار سطح برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و پنج سطح برای بررسی فعالیت آنزیم‌ها) در قالب طرح کامل تصادفی و با سه تکرار، در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی کرج، انجام شد. بدین منظور از ریزنمونه‌های پایه‌های پابلند گلابی شامل پایه‌ی کنجونی (*P. communis*× *P. ussuriensis*)، (*P. betulifolia*)، پایه Gh1 (*P. communis*× *P. ussuriensis* Rehd) و درگزی (*P. communis* cv. Dargazi)، به صورت رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد. میانگین ارتفاع ریزشاخه‌ها۲ تا ۳ سانتی‌متر بود. زیر کشت ریزنمونه‌های مورد نظر بر روی محیط کشت پایه۱ (QL) (۲۰) دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پیورین (BAP) و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) به همراه ۳۰ گرم ساکاروز، ۱۱ گرم آگار و ۰/۵ گرم پکتین انجام شد. برای مشاهده و ارزیابی فعالیت باکتری از نشانگر pH، برموکروزول سبز[۲] استفاده شد (۱۰) که در آن بر اثر فعالیت باکتری و در نتیجه کاهش pH، رنگ محیط کشت از آبی به سبز تغییر می‌یابد. ریزنمونه‌های آلوده شده، در اتاق رشدی دارای لامپ‌های فلورسنت با شدت نور ۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و با نورگاه ۱۶ ساعت روشنایی و در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس در روز و ۱±۲۲ درجه سلسیوس در شب، قرار داده شدند. در فاصله‌های زمانی هر ۲۴ ساعت، درصد میانگره بافت‌مرده، هم‌چنین پیشرفت نهایی بافت‌مردگی به‌صورت درصد بخش بافت‌مرده به طول کل آن شاخه اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، ریزنمونه‌های آلوده به باکتری، به مقدار کافی و در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از آلودگی، جمع‌آوری و به فریزر ۲۰- درجه سلسیوس منتقل شدند.

آماده‌سازی باکتری *E. amylovora*

آلوده‌سازی ریزنمونه‌ها با آمیخته‌ای از سویه‌های Ea273، K1 و Z2 باکتری *E. amylovora*، انجام شد. سویه‌های باکتری رشد یافته روی محیط کشت LB جامد، در شرایط ضدعفونی به محیط کشت LB مایع منتقل و به مدت ۲۴ ساعت درون هم‌زن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و با ۱۲۰ دور در دقیقه شب گذران شدند. سپس مقدار ۷۵ میکرولیتر از مایه تلقیح یاد شده، به لوله‌های آزمایش دارای محیط کشت QL و برموکروزول سبز افزوده شد و در مرحله انتهایی گیاهچه‌ها روی محیط کشت مستقر شدند. تمامی مرحله‌های بالا در شرایط به‌طور کامل گندزدایی و در زیر هود لامینار انجام شد.

استخراج عصاره

به منظور استخراج عصاره با استفاده از روش زانگ (۲۶) با کمی تغییر، ریزنمونه‌های آلوده شده جمع‌آوری و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. ۱ گرم از نمونه گیاهی پودر و سپس به ۵ میلی‌لیتر بافر ۰/۱ مولار فسفات سدیم (pH ۷) دارای ۱ میلی‌مولار EDTA[۳] و ۱۰۰ میلی‌گرم PVPP[۴] (۶٪ w/v) منتقل شد. تمامی مرحله‌های بالا در ظرف دارای یخ انجام شد. سپس این محلول در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. روشناور حاصل به میکروتیوب جدید منتقل و استفاده شد.

۱- Quoirin and Lepoivre
۲- Green bromo crosol
۳- Ethylene diaminetetra acetic acid
۴- Poly vinyl poly pyrolidone

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (گایاکول پراکسیداز) و پلی‌فنول‌اکسیداز

استخراج آنزیم‌ها بر اساس روش زانگ (۲۶) با کمی تغییر انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز، ۳ میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار، به همراه ۵۰ میکرولیتر گایاکول خالص و ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳٪، تهیه و ماده‌های بالا به ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی افزوده شد و بی‌درنگ مقدار جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر به مدت ۳ دقیقه یادداشت شد.

فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز با افزودن ۲۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۱/۵ میلی‌لیتر ترکیب واکنشی، اندازه‌گیری شد. ترکیب واکنشی شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر کاتکول ۰/۵ میلی‌مولار بود. اندازه‌گیری مقدار جذب در طول موج ۳۹۸ نانومتر به مدت ۲ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. واکاوی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد و نمودارها با نرم افزار Excel 2010 رسم شدند.

نتایج و بحث

ارزیابی‌های ریخت‌شناسی

پیشرفت بافت‌مردگی در رقم‌های کنجونی و Gh1، سریع‌تر و بیش‌تر بود و کم‌ترین مقدار بافت‌مرده در رقم درگزی مشاهده شد. نشانه‌های بافت‌مردگی در پایه‌ی درگزی پس از ۹۶ ساعت مشاهده شد، این در حالی بود که دو پایه کنجونی و Gh1، در این زمان به تقریب از بین رفته بودند. مقاومت رقم درگزی در دیگر پژوهش‌های انجام شده نیز مشاهده شده بود (۱، ۷). پایه *P. betulifolia* از نظر سرعت و مقدار پیشرفت بافت‌مردگی ، بعد از پایه درگزی و در جایگاه دوم قرار گرفت. در شاخص درصد میانگره آلوده نیز نتیجه‌هایی مشابه نتیجه‌های بالا مشاهده شد (شکل‌های ۱، ۲ و۳).

ارزیابی‌های زیست‌شیمیایی

فعالیت آنزیم پراکسیداز

با گذشت زمان و افزایش باکتری، فعالیت آنزیم پراکسیداز در بیشتر پایه‌های مورد بررسی افزایش یافت. پایه *P. betulifolia* نسبت به دیگر پایه‌ها از سطح نخستین آنزیم بیش‌تری برخوردار بود (جدول ۱). افزایش فعالیت‌های آنزیمی در رقم‌های مقاوم دلیلی برای وجود یک سیستم دفاعی مؤثر در این رقم‌ها گزارش شده است (۱۴). در این پژوهش، افزایش در مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم نیمه مقاوم *P. betulifolia* مشاهده شد، اما رقم مقاوم درگزی افزایش چندانی در فعالیت این آنزیم نشان نداد. به نظر می‌رسد مقاومت رقم درگزی در ارتباط با فعالیت دیگر آنزیم‌ها مانند پلی‌فنول اکسیداز و کاتالاز باشد. در برگ رقم مقاوم درگزی افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در حضور باکتری *E. amylovora* گزارش شده است (۵).

فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز

بیشتر پایه‌های مورد بررسی از سطح نخستین بالایی از آنزیم پلی‌فنول اکسیداز نسبت به آنزیم پراکسیداز برخوردار بودند و کم‌ترین مقدار این آنزیم در پایه‌ی حساس کنجونی و بیش‌ترین مقدار آن در پایه‌ی مقاوم درگزی و پس از آن در پایه‌ی نیمه مقاوم *P. betulifolia* مشاهده شد. با توجه به جدول ۱، پایه درگزی رفتاری متفاوت نسبت به دیگر پایه‌ها نشان داد و با گذشت ۲۴ ساعت پس از آلودگی، با شیب به نسبت تندی از فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز کاسته شد. کاهش فعالیت این آنزیم در ساعت‌های نخستین بعد از انگیزش آلودگی، بیانگر مجهز بودن پایه مقاوم درگزی به سازوکار دفاعی بالا می‌باشد که در آن با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، گروه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند و منجر به مرگ یاخته‌های آلوده شده و در نتیجه توقف گسترش باکتری به دیگر یاخته‌های سالم می‌شود.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

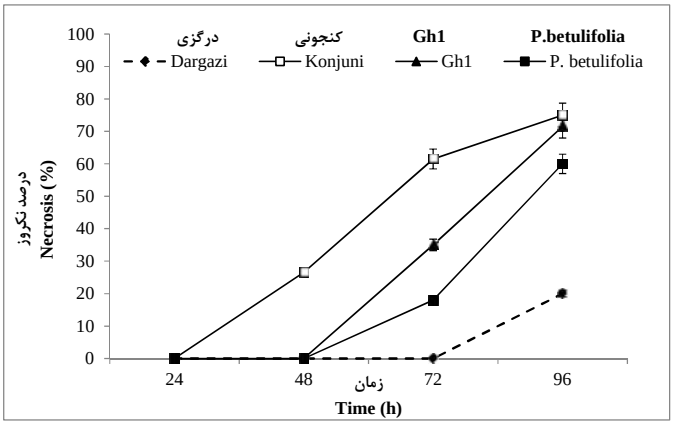

Fig. 1. Necrosis progress rate in pear explants inoculated with *E. amylovora* under *in vitro* conditions.

شکل ۱- سرعت پیشرفت بافت‌مردگی در ریزنمونه‌های گلابی آلوده به باکتری *E. amylovora* در شرایط درون‌شیشه‌ای.

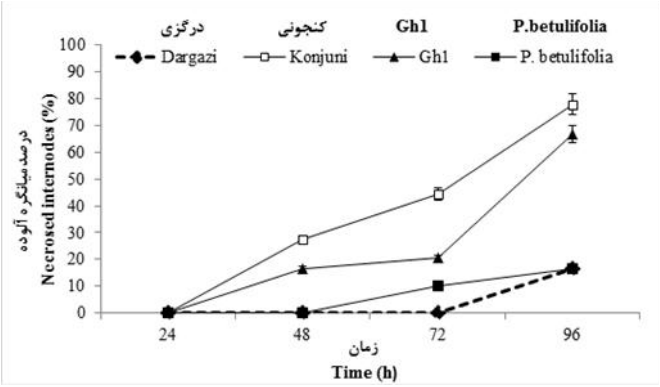

Fig. 2. Necrosis internode in pear explants inoculated with *E. amylovora* under *in vitro* conditions.

شکل ۲- درصد میانگره آلوده در ریزنمونه‌های گلابی آلوده به باکتری *E. amylovora* در شرایط درون‌شیشه‌ای.

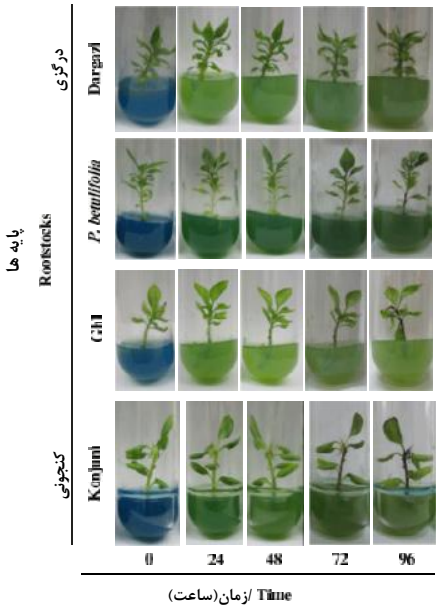

Fig. 3. Necrosis progress in some rootstocks of pear inoculated with *E. amylovora* under *in vitro* conditions.

شکل ۳- پیشرفت بافت‌مردگی در پایه‌های مختلف گلابی آلوده به باکتری *E. amylovora* در شرایط درون‌شیشه‌ای.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

رقم حساس کنجونی سیستم دفاعی ضعیفی را نشان داد و فعالیت کم آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز مشاهده شد که توانایی حذف گروه‌های فعال اکسیژن را نداشتند و باکتری با سرعت در بافت گیاه گسترش یافت. زمانی که میان تولید گروه‌های فعال اکسیژن و سیستم آنتی‌اکسیدانی برای دفع این مولکول‌ها تعادل برقرار نباشد، مقدار زیاد این ترکیب‌ها، سوخت‌وساز طبیعی و تعادل یاخته‌ای را برهم می‌زنند و سبب آسیب‌های اکسایشی به لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌شود (۲۳).

با توجه به قرارگرفتن پایه در خاک و قابل جایگزین نبودن آن پس از استقرار، انتخاب پایه مناسب، بسیار مهم‌تر از رقم پیوندی است؛ بر اساس نتیجه‌های این پژوهش پایه درگزی به‌عنوان رقمی مقاوم به بیماری آتشک شناسایی شد؛ اما استفاده از آن به‌عنوان پایه در احداث باغ، نیازمند انجام پژوهش‌های بیش‌تر در زمینه برهمکنش پایه و پیوندک می‌باشد. میوه رقم درگزی کیفیت و طعم مناسبی ندارد و بیشتر در کارخانه‌های کمپوت سازی استفاده می‌شود، بنابراین در صورت انتقال این ویژگی به رقم پیوند شده، از کیفیت میوه‌های تولیدی کاسته خواهد شد. امید است نتیجه‌های پژوهش حاضر در به‌نژادی رقم‌های گلابی مؤثر واقع شود و رقم‌هایی با کیفیت میوه برتر و مقاوم به تنش‌های گوناگون همچون بیماری آتشک شناسایی و معرفی شوند.

جدول ۱- برهمکنش پایه‌های گلابی و زمان بر مقدار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در شرایط درون‌شیشه‌ای.

Table 1. Interaction of pear rootstocks and time on the amount of Peroxidase activity and Polyphenol oxides activity under in vitro conditions

پایه‌ها Rootstocks	زمان Time (h)	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز Polyphenol oxides activity ABS (398 nm) (ΔODmin-1 g-1 FW)	فعالیت آنزیم پروکسیداز Peroxidase activity ABS (436 nm) (ΔODmin-1 g-1 FW)
Dargazi	0	$0.877^{a\dagger}$	0.01^{eh}
	24	0.109^{j}	0.016^{ef}
	48	0.160^{ij}	0.006^{gh}
	72	0.316^{h}	0.006^{gh}
	96	0.281^{h}	0.016^{ef}
P. betulifolia	0	0.750^{bc}	0.046^{d}
	24	0.566^{ef}	$0.05d^{c}$
	48	0.685^{cd}	0.056^{c}
	72	0.686^{cd}	0.07^{b}
	96	0.711^{bcd}	0.088^{a}
Gh1	0	0.649^{de}	0.016^{ef}
	24	0.498^{fg}	0.001^{h}
	48	0.595^{e}	0.003^{gh}
	72	0.776^{b}	0.015^{ef}
	96	0.872^{a}	0.018^{e}
Konjuni	0	0.449^{g}	0.006^{gh}
	24	0.230^{hi}	0.008^{f-h}
	48	0.240^{hi}	0.006^{gh}
	72	0.290^{h}	0.006^{gh}
	96	0.238^{hi}	0.011^{eg}

†Means followed by the same letters were not significantly different according to Duncan's multiple range test (p = 0.01).

†میانگین‌هایی که در هر ستون حرف‌های مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر ندارند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

نتیجه‌گیری

پایه‌های کنجونی وGh1 به بیماری آتشک حساس و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در آن‌ها شبیه به هم بود، در هر دو پایه سطح اولیه و هم‌چنین مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کم بود. پایه‌های درگزی و *P. betulifolia*، نسبت به بیماری آتشک از خود مقاومت نشان دادند، اما مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در آن‌ها متفاوت بود. در پایه درگزی آنزیم پلی فنول اکسیداز فعالیت بیش‌تری داشت، در حالی‌که در پایه‌ی *P. betulifolia* آنزیم پراکسیداز از فعالیت بیش‌تری برخوردار بود. به طور کلی در رقم‌های گلابی مورد مطالعه، سطح نخستین آنزیم پلی‌فنول اکسیداز بیش‌تر از آنزیم پراکسیداز بود. مقدار مقاومت پایه‌های مورد بررسی به بیماری آتشک، از مقاوم به حساس به‌ترتیب درگزی، *P. betulifolia*، Gh1 و کنجونی مشخص شد.

منابع References

۱. آذرآبادی، س. ر.، ح. عبداللهی و م. ترابی. ۱۳۹۳. مقاومت به بیماری آتشک در پایه های جدید نیمه پاکوتاه کننده گلابی در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه. مجله به‌نژادی نهال و بذر، ۲۴۲- ۲۲۷:۳۰.

۲. خزائی، ف. ع.، ح. ر. اعتباریان، ع. روستائی و ع. علیزاده. ۱۳۸۹ . مطالعه میزان تغییرات آنزیم پراکسیداز و فنل کل در میوه‌های سیب رقم زرد تیمارشده با باکتری آنتاگونیست *Pseudomonas fluorescens* و قارچ *Penicillium expansum* عامل کپک آبی سیب. مجله به زراعی نهال و بذر، ۴۳۳-۴۱۹:۲۶.

۳. داوودی، ع.، ا. مجیدی، ح. رحیمیان و م. ولیزاده. ۱۳۸۴. بررسی شدت آلودگی آرقام گلابی به بیماری آتشک با استفاده از سیستم استاندارد USDA. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۶۸-۱۵۹: ۹.

۴. ذاکری، ز. و ب. شریف نبی. ۱۳۷۵. وضعیت بیماری باکتریایی آتشک روی درختان میوه در منطقه کرج ۱۳۶۸ – ۱۳۷۴. مجله علوم کشاورزی ایران، ۷۷-۷۳: ۲۷.

۵. عبادی، ع.، ج. عرفانی، ح. عبداللهی و م. ر. فتاحی مقدم. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و فنل کل در برخی ارقام گلابی آلوده شده به بیماری آتشک. نشریه علوم باغبانی ایران، ۱۳۶-۱۲۷: ۴۵.

۶. عبداللهی، ح. و ا. مجیدی هروان. ۱۳۸۴. بررسی ارتباط مقاومت به بیماری آتشک (fire blight) با صفات مختلف رویشی و زایشی در ارقام سیب (*Malus domestica* Borkh.). نهال و بذر،۵۱۳-۵۰۱: ۲۱.

۷. عرفانی، ج .، ح. عبداللهی، ع. عبادی، م. ر. فتاحی مقدم و ک. ارزانی. ۱۳۹۲. ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک و نشانگرهای وابسته به آن در برخی ارقام گلابی اروپایی و آسیایی. مجله به‌نژادی نهال و بذر، ۶۷۲-۶۵۹: ۲۹.

۸. میرزایی، م.، ح. امینیان و ع. روستایی. ۱۳۹۱. بررسی کنترل بیولوژیک بیماری آتشک گلابی با عامل (*Erwinia amylovora*) با استفاده از برخی باکتری های آنتاگونیست. مجله کنترل بیولوژیک آفات و بیماریهای گیاهی، ۴۷-۱: ۳۹.

9. Abdollahi, H., F. Tahzibi and Z.Ghahremani. 2010. Correlation between fire blight resistance and morphological characteristics of pear (*Pyrus communis* L.). In: XII International Workshop on Fire Blight. pp. 896.
10. Abdollahi, H., M. Ruzzi, E. Rugini and R.Muleo. 2004. An *in vitro* system for studying the interaction between *Erwinia amylovora* and genotypes of pear. PCTOC. 79: 203-212.
11. Bokszczanin, L., A. Dondini and K. Przybyla. 2009. First report on the presence of fire blight resistance in linkage group 11 of *Pyrus ussuriensis* Maxim. J. Appl. Genet. 50: 99–104.
12. Cao, J., W. Jiang and H. He. 2005. Induced resistance in Yali Pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd) fruit against infection by *Penicillium expansum* by postharvest infiltration of Acibenzolar- S-methyl. Phytopathol. 153: 640-646.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

13. Djennane, S., C. Cesbron and S. Sourice. 2011. Iron homeostasis and fire blight susceptibility in transgenic pear plants overexpressing a pea ferritin gene. J. Pla. Sci. 180: 694-701.
14. Honty, K., M. Hevesil, M. Tothl and E. Stefanovits-Banyai. 2005. Some biochemical changes in pear fruit tissue induced by *Erwiniaaymlovora.* Acta. Biol. 49: 127-129.
15. Jithesh. MN., SR. Prashanth, K. R. Sivaprakash and A. K. Parida. 2006. Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. Ind. Acad. Sci. 85: 237-254.
16. Kenneth, B., and V. O. Stochwell. 2000. Biological control of fire blight. CABI, UK.
17. Lee, S.A., H.K. Ngugi, N.O. Halbrendt, G. OKeefe, B. Lehman, J. W. Travis, J. P. Sinn and T .W. McNellis. 2010. Virulence charateristics accounting for fire blight diseas severity in apple trees and seedlings. Phytopathol. 100: 539-550.
18. Oitto, W. A., T. Vander zwet and H. J. Brooks. 1970. Rating of pear cultivars for resistance to fire blight. Hort. Sci. 5: 474-476.
19. Paridaa, A. K., and A. B. Dasa. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. Environ. Saf. 60: 349-354.
20. Quoirin, M., and P. Lepoivre. 1977. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. Acta Hort. 78: 437-442.
21. Staskawicz, B. J., F. M. Ansubel, B. J. Baker, J. G. Ellis and J. G. Jones. 1995. Molecular genetics of plant disease. Resistance Sci. 268: 661-667.
22. Sofo A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Masia. 2005. Antioxidant defenses in olive trees during drought stress: Change in activity of some antioxidant enzymes. Func. Plant Biol. 32: 45-53.
23. Taylor, N. L., D. Day and M. Harvey. 2004. Targets of stress induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism. J. Exp. Bot. 55: 1-10.
24. Van der Zwet, T., and H. L. Keil. 1979. Fire blight: A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. United States Department of Agriculture, Agricultural Handbook.
25. Van der Zwet, T. 2002. Present worldwide distribution of fire blight. Acta. Hort. 590: 33–34.
26. Zhang, Z., K. Nakano and S. Maezawa. 2009. Comparison of the antioxidant enzymes of broccoli after cold or heat shock treatment at different storage temperatures. Postharvest Biol. Technol. 54: 101-105.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 18 (1): 81-88 (2017)

Study of Antioxidant Enzymes Activity and Morphological Changes in Some Vigorous Pears Inoculated with Cause of Fire Blight Disease *(Erwinia amylovora) In vitro* Conditions

M. Mansouryar, H. Abdollahi, J. Erfani Moghadam and S.A. Salami[1]

Erwinia amylovora bacterium is the cause of Fire blight disease and is one of the most important damage factors in pome fruit orchards. Currently utilizing resistant varieties and rootstocks are introduced as most important way to fight against these bacteria. Present study aimed to evaluate the resistance rate and study the induced biochemical changes in four pear vigorous rootstocks including Konjuni, *P. betulifolia*, Dargazi and Gh1 rootstocks *in vitro* conditions. For this purpose, each four rootstocks explants inoculated with a mixed of *Erwinia amylovora* strains. Induced morphological and biochemical changes in rootstocks were evaluated at 24 hours intervals for 4 days. According to results, Dargazi and *P. betulifolia* rootstocks were more resistant than other two rootstocks *in vitro* conditions and exhibited lowest necrosis percentage. Also, activity of antioxidant enzymes including peroxidase and polyphenol oxidase in these two rootstocks increased more than Konjuni and Gh1 rootstocks. In Dargazi rootstock, polyphenol oxidase had more activity whiles in *P. betulifolia* rootstock, peroxidase enzyme had more activity. Totally, based on results of present study, Dargazi and *P. betulifolia* rootstocks could be introduced as resistant and semi-resistant rootstocks and Konjuni as the most sensitive rootstock to fire blight disease.

Key Words: Dargazi, Peroxidase, Polyphenol oxidase, *P. betulifolia*.

1. M.Sc. Student of Physiology and Breeding of Fruit Trees, Ilam University, Associate Professor of Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Assistant Professor of Horticulture Department, Faculty of Agriculture of Ilam University, and Assistant Professor of Horticulture Department, Faculty of Agriculture of Tehran University, Tehran, Iran, respectively.
*Corresponding author, Email: (m.mansouryarm@gmail.com).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.1.5.8]