

تعیین مهم‌ترین صفات مؤثر بر نشت الکترولیتی گلابی وحشی (*Pyrus bioisieriana* Buhse) تحت شرایط تنش خشکی با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره

سیدمرتضی زاهدی^{۱*}، مهدیه کریمی^۲، فرزاد کیان ارثی^۳

^۱استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

^۲دانش آموخته مقطع دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

^۳دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۵

چکیده

گلابی وحشی یک پایه مهم برای ارقام مختلف گلابی محسوب می‌شود و با توجه به اینکه تا حدودی بردبار به خشکی بوده، کاربرد تیمارهای مختلف برای افزایش تحمل آن در مقابله با تنش خشکی امری ضروری است. نشت الکترولیت‌ها عامل مهم و مؤثر در پاسخ به تنش خشکی و صفات مربوط به آن می‌باشد. برای این منظور آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار جهت شناسایی صفات مؤثر بر نشت الکترولیتی طراحی گردید. این صفات در ۱۲ تیمار شامل سطوح مختلف تنش خشکی و غلظت‌های مختلف براسینواسترئوئید روی گلابی وحشی در بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج همبستگی سایر صفات با نشت الکترولیت نشان داد که این صفت با صفات میزان پرولین ($r=0/83^{**}$)، مالون دی‌آلدئید ($r=0/98^{**}$) و پراکسید هیدروژن ($r=0/87^{**}$) همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار و با صفات وزن خشک ریشه، برگ و ساقه، رشد طولی، کلروفیل a، b و کارتنوئیدها همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار داشت. نتایج رگرسیون گام به گام نشان داد که چهار صفت کلروفیل a، وزن خشک برگ، رشد طولی و پراکسید هیدروژن در مجموع ۹۹ درصد از تغییرات را توجیه نمودند. بر اساس نتایج تجزیه علیت، میزان پراکسید هیدروژن بیشترین تأثیر مستقیم مثبت (۰/۰۸۳) و صفات رشد طولی و کلروفیل a بیشترین تأثیر مستقیم و منفی را بر نشت الکترولیت‌ها داشتند. صفت میزان پراکسید هیدروژن بیشترین اثر غیرمستقیم و مثبت را از طریق کاهش میزان کلروفیل a بر نشت الکترولیت‌ها داشت. صفت رشد طولی بیشترین اثر غیرمستقیم و منفی را از طریق کلروفیل a بر نشت الکترولیت‌ها داشت. با استفاده از نتایج این پژوهش می‌توان علاوه بر اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها به صورت مستقیم، تیمارهای افزایش تحمل به تنش خشکی در گلابی وحشی را با اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن، رشد طولی و کلروفیل a توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: گلابی وحشی، نشت الکترولیت‌ها، همبستگی، رگرسیون گام به گام، تجزیه علیت

مقدمه

گلابی وحشی^۱ از خانواده گلسرخیان^۲ متعلق به راسته گلسرخیان^۳ می‌باشد. از نظر گیاه‌شناسی درختان این گونه درختچه‌ای هستند که حداکثر به ۵ متر می‌رسند و دارای برگ‌های سبز براق و بیضی شکل هستند. گلابی بعد از انگور و سیب سومین و مهم‌ترین میوه مناطق معتدله به شمار می‌رود. گلابی‌های وحشی علی‌رغم تولید میوه‌های با بازارپسندی ضعیف، به عنوان پایه در مناطق معتدله دارای تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی و غرقابی می‌توانند مورد استفاده قرار بگیرند (Zarafshar et al., 2016). این گونه علاوه بر اینکه پایه مناسبی برای ارقام مختلف گلابی در مناطق خشک است، از لحاظ داروئی نیز مورد توجه بوده و اهمیت این جنبه در حال گسترش است. از لحاظ پزشکی برگ‌ها و پوست نهال دارای آنتی‌اکسیدان‌ها و به ویژه نوعی فنل گلوکوزیدی به نام آربوتین^۴ است که در محصولات ضد آفتاب استفاده می‌شود (Couteau and Coiffard, 2000). کشور ایران به ویژه جنگل‌های شمال و ترکمنستان، منبع غنی از ژنوتیپ‌های گلابی وحشی محسوب می‌شود (Zarafshar et al., 2016).

کشور ایران در تقسیم‌بندی جغرافیایی در منطقه خشک و نیمه‌خشک جهان قرار دارد و تنش خشکی یکی از محدودکننده‌ترین تنش‌های غیرزیستی در کشور ما محسوب می‌شود. می‌توان با روش‌هایی مقاومت پایه‌ها را نسبت به کم آبی افزایش داد که یکی از آن‌ها کاربرد ترکیباتی است که روی بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درون گیاه اثر گذاشته و موجب القاء مقاومت به تنش خشکی شود.

1. *Pyrus biossieriana* Buhse
2. Rosaceae
3. Rosales
4. Arbutin

شناخت ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هر محصول در شرایط مختلف محیطی، اولین و مهمترین گام در جهت برآورد اهداف اصلاحی می‌باشد (Emam and Borjan, 2000; Etoh and Simon, 2002) که در ارتباط با برنامه‌های اصلاحی گیاهان، نژادهای محلی و توده‌های بومی به دلیل سازگاری ویژه با شرایط محیطی و دارا بودن ژن‌های مفید از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند (Maab and Klaas, 1995).

انتخاب بر اساس صفات مورفولوژیک که به آسانی قابل دسترسی‌اند، کمک قابل توجهی در راستای انتخاب هم‌گروه‌ها و توده‌ها می‌نماید (Etoh et al., 2001). روش‌های آماری چندمتغیره که به طور همزمان ژنوتیپ‌ها را از نظر چندین خصوصیت مورد ارزیابی قرار می‌دهند به طور گسترده در ارزیابی تنوع ژنتیکی، صرف نظر از ماهیت داده‌ها (مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی) استفاده می‌شوند.

به‌طور کلی، استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره، جهت شناسایی صفات و ویژگی‌های مهم و مؤثر بر عملکرد و تعیین میزان سهم نسبی هر یک از آن‌ها بر عملکرد، مفید و کارآمد است. از جمله مهم‌ترین این روش‌ها، می‌توان به تجزیه همبستگی، رگرسیون گام به گام و تجزیه علیت اشاره کرد (Mohammadi and Prasanna, 2003). تجزیه ضرایب مسیر، روشی برای تفکیک ضرایب همبستگی به تاثیرات مستقیم و غیر مستقیم صفات است و اطلاعات مفیدی درباره نحوه تاثیرپذیری صفات از یکدیگر و روابط بین آن‌ها فراهم می‌کند.

براسینواستروئیدها از جمله موادی هستند که روی طیف وسیعی از فرآیندهای زیستی محصولات زراعی و باغی اثرگذار می‌باشند. براسینواستروئیدها علاوه بر تنظیم نمو گیاه و فرآیندهای فیزیولوژیکی در واکنش به تنش خشکی در گلابی وحشی (Zahedi et al.,

با توجه به اینکه تا کنون روش‌های آماری چندمتغیره همچون تجزیه همبستگی، رگرسیون گام به گام و تجزیه علیت برای بررسی صفات مورفوفیزیولوژیکی در نهال‌های مختلف گلابی ایران انجام نشده است و در سطح جهانی نیز چنین مطالعه‌ای یافت نشد، این پژوهش با اهداف زیر انجام شد:

۱- شناسایی مهمترین صفات با تاثیر مستقیم و غیر مستقیم بر نشت الکترولیت و تحمل نسبی تنش خشکی در شرایط اکولوژیکی ایران جهت انتخاب مستقیم و غیرمستقیم نهال‌های گلابی ۲- بررسی ضرایب همبستگی صفات مهم مرتبط با تنش خشکی از جمله نشت الکترولیت‌ها در تیمارهای برهمکنش سطوح مختلف تنش خشکی و غلظت‌های مختلف براسینواستروئید و ۳- همچنین تعیین مهم ترین صفات موثر بر نشت الکترولیت و تنش خشکی و ارزیابی اثر مستقیم و غیرمستقیم مربوط به این صفات روی نشت الکترولیت با استفاده از روش آماری رگرسیون و تجزیه به علیت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش شامل ۱۲ تیمار به صورت فاکتوریل ۳×۴ (فاکتور اول سطوح تنش خشکی در چهار سطح و فاکتور دوم محلول پاشی با براسینواستروئید در سه سطح) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ در گلخانه دانشگاه مراغه (۳۷/۴۰° شمالی و ۴۸/۲۵° شرقی) روی دانه‌های گلابی وحشی انجام شد. بذور گلابی وحشی در نیمه دوم اسفندماه از منطقه لیسار (۳۷/۹۶° شمالی و ۴۸/۹۱° شرقی) استان گیلان تهیه و در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۱/۵ سانتی‌متر و حجم ۱۰ لیتر کشت شد. سپس در هر گلدان ترکیب خاکی شامل خاک زراعی،

کلزا (Kannan and Kulandaivelu, 2011) و گوجه‌فرنگی (Yuan et al., 2010) اثر مثبت داشته‌اند. براسینواستروئیدها با کمک به تجمع اسید آسبیزیک در گیاه و کم کردن هدایت روزنه‌ای و افزایش بازدهی و نگهداری آب نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به خشکی دارند (Xia et al., 2009). غشای سلولی از اولین اندامک‌هایی است که در تنش خشکی تراوایی آن افزایش یافته و نشت الکترولیت‌ها از سلول سبب مرگ آن می‌شود (Kagale et al., 2007). در شرایط کم آبی براسینواستروئیدها سبب کاهش آسیب و پراکسیداسیون غشاهای پلاسمایی و نشت الکترولیت‌ها در گلابی وحشی می‌شوند (Zahedi et al., 2017). بوته‌های لوییا قرار گرفته تحت تنش کم آبی، همبستگی مثبت بین نشت الکترولیت‌ها و میزان پرولین و همبستگی منفی بین این صفت و محتوای آب نسبی برگ به دست آمد (Boroujerdnia et al., 2016).

زمانی که در شرایط تنش خشکی ارتفاع گیاه و تعداد برگ‌ها کاهش می‌یابد، وزن خشک اندام هوایی درختان میوه نیز به دنبال آن کم می‌شود. کاهش در وزن خشک اندام‌ها تحت تنش آبی می‌تواند در نتیجه عدم دسترسی کافی به آب برای آماس سلول‌ها باشد (Arji and Arzani, 2000). افزایش تولید پرولین به علت افزایش ویژگی اسمزی بافت برگ محتوای آب نسبی و همچنین به علت افزایش مصرف گلوتامات (Qu et al., 2009) افزایش در غلظت مالون دآلدئید در گیاهان متعدد تحت تنش خشکی، نظیر گلابی (Zarafshar et al., 2014)، هلو و بادام (Amraee) (Tabar et al., 2016) گزارش شده است. گزارش شده است که محلول پاشی براسینواستروئید به ویژه در غلظت ۱۰ میلی‌مولار روی گلابی وحشی تحت تنش خشکی سبب کاهش میزان مالون دی‌آلدئید می‌شود (Zahedi et al., 2017).

معادله ۱) $\frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100$ = محتوای نسبی آب برگ
 FW: وزن تازه برگ، DW: وزن خشک برگ و TW:
 وزن آماس می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها: برای اندازه-گیری میزان نشت الکترولیت‌ها، قطعات برگ‌گی به اندازه ۲cm×۱ به لوله‌های حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر انتقال داده شد. لوله‌ها به مدت ۱۷ ساعت در محیط تاریک روی شیکر قرار گرفتند و میزان هدایت الکتریکی اولیه (EC₁) با استفاده از دستگاه EC متر (مدل اینولب ۷۲۰) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۵ اتمسفر قرار داده و بعد از خنک شدن در دمای اتاق هدایت الکتریکی بیشینه (EC₂) اندازه‌گیری و درصد نشت الکترولیت (EC) از طریق معادله ۲ محاسبه شد (Lutts et al., 1996).

$$EC = (EC_1/EC_2) \times 100 \quad (\text{معادله ۲})$$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کارتنوئیدها: جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کارتنوئیدها، ۰/۲ گرم از برگ تازه در یک هاون چینی با ۵ میلی لیتر استون ساییده و به صورت یک توده یکنواخت درآمد. محلول حاصل با سانتیفریوژ (مدل فرولبو، فرانسه) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴ هزار دور در دقیقه سانتیفریوژ شد. پس از جدا کردن عصاره رویی مرحله بالا دو بار دیگر تکرار گردید و در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان آمریکا)، میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۴ نانومتر قرائت گردید و کلروفیل‌های a، b و کارتنوئیدها توسط روابط ذیل محاسبه گردید (Porra, 2002).

$$(\text{معادله ۳})$$

$$A_{664} \times (12/25) = (\text{میلی گرم بر گرم وزن تر}) \text{ کلروفیل } a$$

$$A_{645} \times (2/55)$$

ماسه و کود دامی پوسیده، به ترتیب با نسبت‌های ۱:۱:۲ ریخته شد. بافت خاک تهیه شده از نوع لومی شنی بود.

برای تعیین سطوح رطوبتی از روش وزنی استفاده گردید و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان‌ها با پلاستیک پوشانده شد. وزن خاک اشباعی که با بیرون رفتن آب از انتهای گلدان به وزن ثابت رسیده بود از وزن خاک خشک کم شد و میزان ظرفیت زراعی به این روش به دست آمد. تیمارهای ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نسبت به ظرفیت زراعی سنجیده شد و سپس گلدان‌ها روزانه وزن (با توجه به افزایش روزانه وزن خود گیاه) و برای رسیدن به سطح هر تنش، مقدار آب محاسبه شده اضافه می‌شد.

محلول‌های براسینواستروئید (سیگما-آلدریچ، آمریکا) در دو غلظت شامل ۳ و ۱۰ میلی مولار با حل کردن در محلول اتانول و به حجم رساندن با آب مقطر تهیه (Behnamnia et al., 2015) و برای اعمال تیمار از روش محلول‌پاشی روی اندام هوایی استفاده شد. تیمار شاهد بدون محلول‌پاشی بود. تیمارهای براسینواستروئید بعد از شروع دوره تنش خشکی و آبیاری آخر و فقط یک مرتبه به صورت محلول‌پاشی روی نهال‌ها انجام شد (Zarafshar et al., 2014).

اندازه‌گیری وزن خشک برگ، ساقه و ریشه: برای اندازه‌گیری وزن خشک برگ، ساقه و ریشه، بعد از قرارگیری این اندام‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در داخل آون، وزن آن‌ها توسط ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری ارتفاع بوته از خط کش میلی متری استفاده شد و ارتفاع گیاه از سطح خاک تا آخرین برگ ثبت و گزارش گردید.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: محتوای نسبی آب برگ با جایگذاری در معادله ۱ اندازه‌گیری شد (Turner, 1981)

(معادله ۴)

$$(A_{745} \times 20/31) = \text{میلی گرم بر گرم وزن تر} \text{ کلروفیل } b$$

$$- (A_{764} \times 4/91)$$

$(A_{470} \times 1000) = \text{میلی گرم بر گرم وزن تر} \text{ کارتنوئیدها}$
 (معادله ۵) $227/[104 \times b - 3/27 \times b]$ کلروفیل b
 در معادله‌های بالا A_{764} و A_{745} و A_{470} به ترتیب
 میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۴ و ۶۴۵ و ۴۷۰
 نانومتر می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان پرولین: برای اندازه‌گیری میزان
 پرولین مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول به دست آمده از
 ترکیب ۰/۵ گرم بافت تازه برگ همراه با ۱۰ میلی‌لیتر
 اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد با ۲ میلی‌لیتر اسید
 استیک و ۲ میلی‌لیتر ناین هیدرین ترکیب شده و پس
 از ۲ ساعت قرار گرفتن در بن‌ماری، ۴ میلی‌لیتر
 تولوئن به آن اضافه گردید و جذب در طول موج
 ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و با جایگذاری در معادله ۶
 به دست آمد (Bates et al, 1973).

(معادله ۶) [وزن نمونه (۰/۵ گرم) = حجم عصاره (۱۰ میلی
 لیتر)] $\times [1000 \div \text{عدد قرائت شده}] = \text{میلی گرم بر وزن تر}$
 پرولین

غلظت مالون دی آلدید: غلظت مالون دی آلدید به
 عنوان شاخص پراکسیداسیون غشاء، ۰/۲ گرم از بافت
 تازه برگ در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱
 درصد کوبیده و سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از
 محلول رویی ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک
 اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک
 اسید است، اضافه شد. مخلوط در دمای ۹۵ درجه
 سانتی‌گراد قرار داده و بعد از قرارگیری روی یخ،
 غلظت مالون دی آلدید با استفاده از معادله ۷ محاسبه
 شد (Heath and Packer, 1969)

$$A = EBC \quad \text{(معادله ۷)}$$

$A =$ جذب $E =$ ضریب خاموش معادل $1\text{cm}^{-1} - 1\text{mM}^{-1}$ ،
 $B =$ عرض کووت، $C =$ غلظت کمپلکس بر حسب
 میلی‌مولار.

اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن: برای
 اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن ۰/۱ گرم نمونه
 برگ با پنج میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد
 ساییده و مخلوط سانتریفیوژ شد. پس از آن ۵۰۰
 میکرولیتر از عصاره به همراه ۵۰۰ میکرولیتر بافر
 فسفات و ۲ میلی‌لیتر معرف یک مولار یدید پتاسیم به
 مدت یک ساعت در تاریکی قرار داده شد. میزان
 جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج
 ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پراکسید هیدروژن
 نمونه‌ها بر حسب میلی‌مول بر گرم وزن تر محاسبه
 گردید (معادله ۸) (Sergiev et al., 2001).

(معادله ۸)

$$\text{پراکسید هیدروژن} = \frac{\text{حجم عصاره (5 ml)}}{\text{وزن تر نمونه (0.1g)}} \times \frac{\text{عدد قرائت شده}}{1000}$$

جهت ارزیابی تنوع تیمارها بر اساس صفات مهم
 مؤثر بر میزان تحمل به تنش خشکی و برای شناسایی
 مهم‌ترین صفات تأثیرگذار بر میزان نشت
 الکترولیت‌ها، از روش‌های آماری مختلف از جمله
 ضرایب همبستگی، تجزیه رگرسیون گام به گام (به
 منظور شناسایی صفات مؤثر بر نشت الکترولیت‌ها) و
 تجزیه علیت (به منظور تعیین اثرات مستقیم و غیر
 مستقیم صفات بر نشت الکترولیت‌ها) استفاده شد.

پیش از حساب کردن ضرایب در تجزیه علیت باید
 متغیرهای شرکت کننده در تجزیه، تعیین و مشخص
 گردند. انتخاب متغیرها می‌تواند بر اساس روابط علت و
 معلول، دانش قبلی پژوهشگر، روابط فیزیولوژیکی بین
 ویژگی‌ها و یا از راه رگرسیون گام به گام انجام شود. در
 این مطالعه نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver. 19
 ویژگی‌هایی که وارد مدل شدند به عنوان متغیرهای
 مستقل در نظر گرفته شد و ضرایب همبستگی آن‌ها
 محاسبه شد. برای انجام رگرسیون گام به گام از نرم‌افزار
 MINITAB Ver. 14 استفاده گردید. اثرات مستقیم و

غیرمستقیم صفات بر ویژگی نشت الکترولیت‌ها با استفاده از نرم افزار PATH2 ارزیابی شد.

نتایج

محتوای آب نسبی: بر اساس نتایج تجزیه همبستگی (جدول ۱) مشخص شد که با کاهش میزان این صفت وزن خشک ریشه، ساقه و برگ، رشد طولی، کلروفیل a، b و کارتنوئیدها نیز کاهش و میزان پرولین، مالون دی آلدیید و پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابند. نتایج تجزیه همبستگی نیز یافته‌های بالا را تأیید کرد، به طوری که نتایج نشان داد که این صفت با نشت الکترولیت همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار ($r = 0/97^{**}$) داشت (جدول ۱).

نشت الکترولیت‌ها: نتایج به دست آمده از جدول ۱ بیانگر این است که این صفت با میزان پرولین ($r = 0/83^{**}$)، مالون دی آلدیید ($r = 0/98^{**}$) و پراکسید هیدروژن ($r = 0/87^{**}$) همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار و با وزن خشک ریشه، برگ و ساقه، رشد طولی، کلروفیل a، b و کارتنوئیدها همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار داشت.

وزن خشک ریشه، ساقه و برگ: نتایج به دست آمده (جدول ۱) بیانگر این است که این صفات با محتوای آب نسبی، رشد طولی، کلروفیل a، b و کارتنوئیدها همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار و با صفات میزان پرولین، مالون دی آلدیید و پراکسید هیدروژن همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار داشت.

رشد طولی: نتایج همبستگی صفات (جدول ۱) حاکی از آن است که بین رشد طولی و محتوای آب نسبی و وزن خشک ریشه، برگ و ساقه همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار و نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار ($r = 0/98^{**}$) وجود دارد.

کلروفیل a و b و کارتنوئیدها: همبستگی صفات (جدول ۱) نشان داد که میزان کلروفیل a، b و کارتنوئیدها با یکدیگر و همچنین با محتوای آب نسبی، رشد طولی، وزن خشک ریشه، ساقه و برگ همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار و با نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار داشتند. **پرولین:** بین میزان پرولین و نشت الکترولیت‌ها همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار ($r = 0/83^{**}$) و با سایر صفات همبستگی منفی و کاملاً معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱).

مالون دی آلدیید: نتایج (جدول ۱) بیانگر همبستگی مثبت و کاملاً معنی‌دار مالون دی آلدیید با نشت الکترولیت‌ها، میزان پرولین و پراکسید هیدروژن بود.

پراکسید هیدروژن: همبستگی این صفت با صفات نشت الکترولیت‌ها ($r = 0/87^{**}$)، پرولین ($r = 0/84^{**}$) و مالون دی آلدیید ($r = 0/86^{**}$) مثبت و کاملاً معنی‌دار و با صفات محتوای آب نسبی، وزن خشک ریشه، ساقه و برگ، رشد طولی، کلروفیل a، b و کارتنوئیدها منفی و کاملاً معنی‌دار بود.

رگرسیون گام به گام: با استفاده از مدل رگرسیونی گام به گام (با ۱۵٪ احتمال ورود صفات به مدل و ۲٪ احتمال خروج صفات از مدل) صفت‌هایی که کم تأثیر یا بی تأثیر بودند، از مدل حذف شدند. به منظور تعیین صفات با بیشترین تأثیر بر نشت الکترولیت‌ها و تعیین سهم هر یک از صفات، از رگرسیون گام به گام استفاده شد. برای این منظور نشت الکترولیت‌ها به عنوان متغیر وابسته، و سایر صفات به عنوان متغیر مستقل انتخاب شدند.

در نهایت چهار صفت کلروفیل a، وزن خشک برگ، رشد طولی و پراکسید هیدروژن به عنوان صفات تأثیرگذار وارد مدل شدند و ۹۹٪ از تغییرات داده‌ها را توجیه نمودند. با توجه به جدول ۲ می‌توان وجود یک

رابطه قوی بین نشت الکترولیت‌ها با میزان کلروفیل a، مشاهده نمود. بیشترین همبستگی بین نشت الکترولیت‌ها با میزان پراکسید هیدروژن وجود دارد. وزن خشک برگ، رشد طولی و پراکسید هیدروژن

جدول ۱: همبستگی صفات مورد بررسی تحت شرایط تنش خشکی

صفات	(۱)	(۲)	(۳)	(۴)	(۵)	(۶)	(۷)	(۸)	(۹)	(۱۰)	(۱۱)
محتوای نسبی رطوبت (۱)	۱										
نشت الکترولیت (۲)	-۰/۹۷**	۱									
وزن خشک ریشه (۳)	۰/۹۷**	-۰/۹۸**	۱								
وزن خشک ساقه (۴)	۰/۹۵**	-۰/۹۸**	۰/۹۹**	۱							
وزن خشک برگ (۵)	۰/۹۸**	-۰/۹۶**	۰/۹۵**	۰/۹۲**	۱						
رشد طولی (۶)	۰/۹۴**	-۰/۹۸**	۰/۹۷**	۰/۹۸**	۰/۹۱**	۱					
کلروفیل a (۷)	۰/۹۹**	-۰/۹۹**	۰/۹۹**	۰/۹۹**	۰/۹۸**	۰/۹۸**	۱				
کلروفیل b (۸)	۰/۹۹**	-۰/۹۷**	۰/۹۸**	۰/۹۶**	۰/۹۵**	۰/۹۷**	۰/۹۴**	۱			
کارتونیدها (۹)	۰/۹۵**	-۰/۹۷**	۰/۹۶**	۰/۹۴**	۰/۹۷**	۰/۹۴**	۰/۹۶**	۰/۹۴**	۱		
پرولین (۱۰)	-۰/۸۸**	۰/۸۳**	-۰/۸۲**	-۰/۷۹**	-۰/۸۳**	-۰/۷۹**	-۰/۸۲**	-۰/۷۴**	-۰/۸۸**	۱	
مالون د آلدنید (۱۱)	-۰/۹۷**	۰/۹۸**	-۰/۹۸**	-۰/۹۶**	-۰/۹۷**	-۰/۹۵**	-۰/۹۷**	-۰/۹۷**	-۰/۹۸**	۰/۸۰**	۱
پراکسید هیدروژن (۱۲)	-۰/۸۳**	۰/۸۷**	-۰/۸۵**	-۰/۸۵**	-۰/۷۹**	-۰/۸۵**	-۰/۸۶**	-۰/۸۵**	-۰/۸۰**	۰/۸۴**	۰/۸۶**

** نشان‌دهنده معنی دار در سطح ۱ درصد

جدول ۲: نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام نشت الکترولیت به عنوان متغیر وابسته و سایر صفات ارزیابی شده به عنوان

متغیرهای مستقل

صفات	عرض از مبدا	ضریب رگرسیونی برای صفات			
		۱	۲	۳	۴
کلروفیل a	۹۹/۶۱	-۸۷۸۵			
وزن خشک برگ	۱۰۶/۷۶	-۷۳۷۴	-۲/۰۳		
رشد ارتفاع	۱۰۹/۸۵	-۲۴۵۰	-۳/۱۷	-۱/۹۵	
پراکسید هیدروژن	۹۹/۰۷	-۱۷۷۷	-۳/۴۱	-۱/۸۸	۲/۷۴

** نشان‌دهنده معنی داری در سطح ۱ درصد

مستقیم و مثبت و میزان کلروفیل a بیشترین اثر مستقیم و منفی را بر میزان نشت الکترولیت‌ها داشت. نتایج بیانگر این است که تیماری که کمترین تولید پراکسید هیدروژن و بالاترین میزان کلروفیل a را سبب شود، می‌تواند به عنوان تیمار مطلوب برای مقابله با خشکی در گلابی وحشی در نظر گرفته شود. چون ضریب همبستگی بین نشت الکترولیت‌ها با این صفات به طور تقریبی برابر با ضریب علیت (اثر مستقیم) بوده است، بنابراین ضریب همبستگی

تجزیه علیت: آثار مستقیم و غیرمستقیم هر صفت بر میزان نشت الکترولیت‌ها بر اساس ضرایب همبستگی محاسبه شد. در این مطالعه از ضرایب همبستگی نشت الکترولیت‌ها با صفاتی که وارد مدل رگرسیون گام به گام شده بودند، استفاده گردید و نشت الکترولیت‌ها به عنوان برآیند و صفات کلروفیل a، وزن خشک برگ، رشد طولی و پراکسید هیدروژن به عنوان متغیرهای علتی یا سببی در نظر گرفته شدند. بر اساس جدول ۳، میزان پراکسید هیدروژن بیشترین اثر

هیدروژن از طریق کاهش کلروفیل a بر افزایش نشت الکترولیت‌ها اثر داشت. صفت رشد طولی بیشترین اثر غیرمستقیم و منفی را از طریق کلروفیل a بر نشت الکترولیت‌ها داشت. بنابراین کاهش رشد طولی از طریق کاهش کلروفیل a بر افزایش نشت الکترولیت‌ها اثر داشت (جدول ۳).

بیان‌کننده میزان رابطه واقعی بین این دو متغیر می‌باشد و انتخاب تیمار از راه اندازه‌گیری این صفات می‌تواند در کاهش نشت الکترولیت‌ها و آسیب دیدن بافت در تنش خشکی مفید و مؤثر باشد. میزان پراکسید هیدروژن بیشترین اثر غیرمستقیم و مثبت را از طریق کاهش میزان کلروفیل a بر نشت الکترولیت‌ها داشت. به عبارتی افزایش پراکسید

جدول ۳: تجزیه علیت همبستگی نشت الکترولیت با صفات باقیمانده در مدل رگرسیون گام به گام

نام صفت	اثر مستقیم	اثر غیر مستقیم از طریق			
		۱	۲	۳	۴
کلروفیل a	-۰/۳۳	-۰/۲۷۹	-۰/۳۱	-۰/۰۷۲	-۰/۹۹
وزن خشک برگ	-۰/۲۹۷	-۰/۳۱۱	-۰/۲۸۸	-۰/۰۶۷	-۰/۹۶
رشد طولی	-۰/۳۱۷	-۰/۳۲۴	-۰/۲۷	-۰/۰۷۲	-۰/۹۸
پراکسید هیدروژن	۰/۰۸۳	۰/۲۸۳	۰/۲۳۴	۰/۲۶۸	۰/۸۷

اثر باقیمانده خطا = ۰/۳۰۶

بحث

میزان پرولین و همبستگی منفی بین این صفت و محتوای آب نسبی برگ یافته شد (Boroujerdnia et al., 2016).

زمانی که در شرایط تنش خشکی ارتفاع گیاه و تعداد برگ‌ها کاهش می‌یابد، وزن خشک اندام هوایی درختان میوه نیز به دنبال آن کم می‌شود. کاهش در وزن خشک اندام‌ها تحت تنش آبی می‌تواند در نتیجه عدم دسترسی کافی به آب برای آماس سلول‌ها باشد (Arji, and Arzani, 2000). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت تیمارهایی که موجب افزایش رشد طولی شوند، با افزایش دریافت نور و در نتیجه افزایش فتوسنتز و ساخت مواد پرورده سبب افزایش زیست توده گیاه می‌شوند (Viakumar et al., 1991). تیمارهای براسینواستروئید سبب افزایش بیان ژن‌های مربوط به پرآوری و افزایش طول شاخساره کلزا در شده‌اند (Sahni et al., 2016).

تنش خشکی نه تنها موجب کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی شده، بلکه آسیب قابل توجهی

افزایش صفت محتوای آب نسبی با تیمار براسینواستروئیدها در شرایط تنش خشکی مطلوب و در انتخاب تیمار برای کاهش مقدار نشت الکترولیت مناسب است (Zahedi et al., 2017). براسینواستروئیدها با کمک به تجمع اسید آسبیزیک در گیاه و کم کردن هدایت روزنه‌ای و افزایش بازدهی و نگهداری آب نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به خشکی دارند (Xia et al., 2009). غشای سلولی یکی از اولین اندامک‌هایی است که طی تنش خشکی آسیب می‌بیند و ویژگی تراوایی انتخابی آن از بین می‌رود و به دنبال نشت الکترولیت‌ها، سلول می‌میرد (Farooq et al., 2009). در شرایط کم آبی براسینواستروئیدها سبب کاهش آسیب و پراکسیداسیون غشاهای پلاسمایی و نشت الکترولیت‌ها در گلایی وحشی می‌شوند (Zahedi et al., 2017). بین بوته‌های لوبیا قرار گرفته در تنش خشکی همبستگی مثبت بین نشت الکترولیت‌ها و

الکتروولت‌ها را نیز کاهش دهد (Zahedi et al., 2017).

تجزیه علیت

تجزیه ضرایب مسیر، روشی برای تفکیک ضرایب همبستگی به تاثیرات مستقیم و غیر مستقیم صفات است و اطلاعات مفیدی درباره نحوه تاثیرپذیری صفات از یکدیگر و روابط بین آن‌ها فراهم می‌کند (Maab and Klaas, 1995). همبستگی بالای بین دو صفت شاید نتیجه اثرات غیرمستقیم صفات دیگر باشد و همیشه استفاده از تجزیه همبستگی ساده نتواند روابط بین صفات را تبیین کند. تجزیه علیت این امکان را فراهم می‌کند که اثرات مستقیم هر جزء عملکرد بر مقدار نهایی تولید، از اثرهای غیرمستقیمی که از طریق ارتباط‌های دو جانبه میان آن‌ها ایجاد می‌شود تفکیک گردد (Emam and Borjan, 2000).

با استفاده از تجزیه علیت مشخص می‌شود که همبستگی صفات با نشت الکتروولت‌ها به علت اثر مستقیم آن‌ها بر نشت الکتروولت‌ها و یا در نتیجه اثر غیرمستقیم از طریق صفات دیگر است. اگر همبستگی بین نشت الکتروولت‌ها و یک صفت به علت اثر مستقیم آن صفت باشد این مطلب منعکس‌کننده یک رابطه واقعی بین آن‌ها است و لذا می‌توان صفت مورد نظر را به منظور اعمال تیمار برای کاهش نشت الکتروولت‌ها طی تنش خشکی انتخاب نمود، اما اگر این همبستگی اصولاً به علت اثر غیرمستقیم صفت از طریق صفت دیگر باشد در این صورت عمل انتخاب تیمار مطلوب را باید روی صفتی انجام داد که سبب اثر غیرمستقیم شده است (Maab and Klaas, 1995).

تنش خشکی سبب افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در بافت می‌شود. تنش خشکی با تاثیر خود بر القای تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر، موجب

روی غشاءهای تیلوکوئیدی گذاشته و منجر به زوال آن و افزایش نشت الکتروولت‌ها می‌گردد (Kannan and Kulandaivelu, 2011). براسینواستروئیدها سبب افزایش میزان کارتنوئیدها و به دنبال آن جلوگیری از تخریب کلروفیل‌ها و افزایش کلروفیل a و b در گلابی وحشی (Zahedi et al., 2017)، خردل (Fariduddin et al., 2009) و نخود (Ali et al., 2007) شده‌اند. در تیمارهایی که نشت الکتروولت‌ها افزایش پیدا کرد، تولید پرولین نیز افزایش یافت. همچنین افزایش تولید پرولین به علت افزایش ویژگی اسمزی بافت برگ محتوای آب نسبی و همچنین به علت افزایش مصرف گلوتامات (Qu et al., 2009) ساخت کلروفیل و به دنبال آن رشد طولی و تولید مواد پرورده را کاهش می‌دهد.

قرار گرفتن در معرض تنش‌های محیطی نظیر تنش خشکی باعث تولید رادیکال‌های آزاد در بافت گیاه می‌گردد (Fang-gong et al., 2006). غلظت مالون دآلدئید شاخص مهمی برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشای غشا طی تنش است. مالون - دآلدئید یکی از محصولات نهایی حاصل از آسیب پراکسیداسیون لیپیدی توسط رادیکال‌های آزاد است. تحت تنش خشکی غلظت مالون دآلدئید در گیاه افزایش می‌یابد (Cvikrov et al., 2013). افزایش پراکسیداسیون غشا و غلظت مالون دآلدئید در گیاهان متعددی تحت شرایط تنش خشکی، نظیر گلابی (Amraee, Zarafshar, et al, 2014)، هلو و بادام (Tabar et al., 2016) گزارش شده است. ثابت شده است که محلول‌پاشی براسینواستروئید به ویژه در غلظت ۱۰ میلی‌مولار روی گلابی وحشی تحت تنش خشکی سبب کاهش میزان مالون دی آلدئید می‌شود. در نتیجه این تیمار می‌تواند همزمان غلظت پراکسید هیدروژن و به دنبال آن آسیب غشاها و نشت

معنی‌دار بوده و همچنین نشت الکترولیت‌ها بسیار وابسته به کاهش وزن خشک برگ، رشد طولی، کلروفیل a و افزایش پراکسید هیدروژن است. در نتیجه می‌توان از همبستگی این صفات برای انتخاب تیمار مناسب جهت افزایش تحمل گلابی وحشی به خشکی استفاده نمود. بر اساس مجموع نتایج خشکی رگرسیون و علیت صفات وزن خشک برگ، رشد طولی، کلروفیل a و پراکسید هیدروژن دارای اثر مستقیم بر نشت الکترولیت‌ها بودند. همچنین میزان پراکسید هیدروژن بیشترین اثر غیرمستقیم و مثبت صفت رشد طولی بیشترین اثر غیرمستقیم و منفی را از طریق کلروفیل a بر نشت الکترولیت‌ها داشت. در نتیجه تیمارهایی که سبب کاهش میزان پراکسید هیدروژن و افزایش کلروفیل a شوند، می‌توانند به عنوان تیمارهای مطلوب برای کاهش کاملاً معنی‌دار نشت الکترولیت‌ها و در نتیجه کاهش آسیب به بافت در تنش خشکی در گلابی وحشی استفاده شوند.

افزایش تولید پراکسید هیدروژن می‌گردد. افزایش در غلظت پراکسید هیدروژن طی تنش خشکی کمک به فعال کردن ژن‌های مسیرهای مقابله با تنش می‌کند و از این راه سبب افزایش تحمل به تنش می‌شوند. ولی پس از گذشتن از حد آستانه تحمل گیاه و در حضور فلزات ناقل الکترون نظیر Fe^{2+} ، موجب خسارت‌های اکسایشی روی غشاءهای سلول شده و افزایش نشت یونی را ایجاد می‌کند (Kannan and Kulandaivelu, 2011). پراکسید هیدروژن با گرفتن الکترون از فلزاتی نظیر آهن دو و سه ظرفیتی تجزیه شده و در نتیجه این واکنش، سمیت آن که اغلب با خساراتی از جمله آسیب به غشاهای تیلاکوئیدی همراه است، ایجاد می‌شود (Kannan and Kulandaivelu, 2011).

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر، همبستگی نشت الکترولیت‌ها با صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش با استفاده از غلظت‌های مختلف براسینواستروئیدها کاملاً

References

- Ali, B., Hayat, S. and Ahmad, A. (2007).** 28-Homobrassinolide ameliorates the saline stress in chickpea (*Cicer arietinum* L). *Environmental and Experimental Botany*. 59: 217–223.
- Amraee Tabar, S., Ershdi, A. and Robati, T. (2016).** The effect of putrescine and spermine on drought tolerance of almond and peach. *Journal of Crops Improvement*. 18: 203-218, (In Farsi).
- Arji, A. and Arzani, K. (2000).** Growth response and proline accumulation in three variety of Iranian olive to drought stress. *Journal of Agricultural Science*. 10: 91-100.
- Bates, L. S., Waldern, R.P. and Teare, M. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Behnamnia, M. (2015).** Protective Roles of Brassinolide on Tomato Seedlings under Drought Stress. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 8 (3): 455- 462.
- Boroujerdnia, M. Bihamta, M. Alami Said, k. and Abdossi, V. (2016).** Effect of drought tension on proline content, soluble carbohydrates, electrolytes leakage and relative water content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Crop Physiology Journal*. 8 (23): 23-41, (In Farsi).
- Couteau, C. and Coiffard, L.J. (2000).** Photostability determination of arbutin, a vegetable whitening agent. *Farmaco*. 55:410-3.
- Cvikrov, M., Gemperlová, L. Martincová, O. and Vanková, R. (2013).** Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 73: 7-15.

- Emam, Y. and Borjan, A.R. (2000).** Yield and yield components of two winter wheat cultivars in response to rate and time of foliar application. *Journal of Agriculture Science*. 2: 263-270.
- Etoh, T. and Simon, P.W. (2002).** Diversity, Fertility, and seed production of garlic. In: *Allium crop science: Recent Advances*, pp.101-117. eds. H.D. Rabinowitch, and L. Currah. CABI international, New York.
- Etoh, T., Watanabe, H. and Iwai, S. (2001).** RAPD variation of garlic clones in the center of origin and the westernmost area of distribution. *Memories of the Faculty of Agriculture of Kagoshima University*. 37: 21-27.
- Fang-gong, S., Ti-da, G. Ping, B.L. Yan, L.Y. and Guang-sheng, Z. (2006).** Effects of Water Stress on the Protective Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Roots and Leaves of Summer Maize. *Agricultural Sciences in China*. 5(4): 101-105.
- Fariduddin, Q., Khanam, S., Hasan, S.A., Ali, B., Hayat, S. and Ahmad, A. (2009).** Effect of 28-homobrassinolide on drought stress induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. *Acta Physiology Plant*. 31: 889-897.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A (2009).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185-212.
- Farooq, M., Wahid, A., Basra, S. M.A and Din, I.U. (2009).** Improving water relations and gas Exchange with brassinosteroids in rice under drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 195: 262-269.
- Heath, R.L. and Packer, L. (1969).** Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysics*. 125:189-198.
- Kagale, S., Divi, U.K., Krochko, J.E., Keller, W.A and Krishna, P. (2007).** Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta*. 225(2): 53-364.
- Kannan, N.D. and Kulandaivelu, G. (2011).** Drought induced changes in physiological, biochemical and phytochemical properties of *Withania somnifera* Dun. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(16): 3929-3935.
- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1996).** NaCl-induced senescence in leaves of rice (*oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal of Annual Botany*. 78: 389-398.
- Maab, H.I. and Klaas, M. (1995).** Intraspecific differentiation of garlic (*Allium sativum* L.) by isozyme and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 91: 89-97.
- Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M. (2003).** Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*. 43: 1235-1248.
- Paquin, R. and Lechasseur, P. (1979).** Observations sur une methode de dosage de la praline libre dans les extraits de plants. *Canadian Journal of Botany*. 57: 1851-1854. (In France).
- Porra, R. J. (2002).** The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*. 73: 149-156.
- Qu, Y.N., Zhou, Q. and Yu, B.J. (2009).** Effects of Zn²⁺ and niflumic acid on photosynthesis in *Glycine soja* and *Glycine max* seedlings under NaCl stress. *Environmental and Experimental Botany*. 65: 304-309.
- Sahni, S., Prasad, B.D., Liu, Q., Grbic, V., Sharpe, A., Singh S.P. and Krishna, P. (2016).** Overexpression of the brassinosteroid biosynthetic gene *DWF4* in *Brassica napus* simultaneously increases seed yield and stress tolerance. *Scientific Reports*. 6:1-4.
- Sergiev, I., Alexieva, V., Karanov, E. and Mapelli, S. (2001).** The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*. 24:1337-1344.

- Turner, N. C. (1981).** Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water stress. *Plant and Soil*. 58: 339-366.
- Viakumar, C., Salmath, P.M., Goud, J.V. and Parameshw, R. (1991).** Genetic variability and genotype environment interaction in chickpea. *Journal of Maharashtra Agricultural University*. 16(1): 37-39.
- Xia, X.J., Wang, Y.J., Zhou, Y.H., Tao, Y., Mao, W.H., Shi, K., Asami, T., Chen, Z.X. and Yu, J.Q. (2009).** Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiology*. 150: 801-814.
- Yuan, G.F., Jia, C.G., Li, Z., Sun, B., Zhang, L.P., Liu, N. and Wang, G.M. (2010).** Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Scientia Horticulturae*. 126: 103-108.
- Zahedi, S.M. Hosseini, M.S. and Karimi, M. (2017).** The effects of drought stress and brassinosteroid solution spray on some morphological, physiological and biochemical characteristics of wild pear (*Pyrus bioisieriana* Buhse). *Plant Process and Function*. Accepted. (In Farsi).
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askary, H., Hosseini, S.M. and Rahaie, M. (2016).** Drought Resistance of Wild Pear (*Pyrus boisseriana* Buhse). *Forest and wood products*. 69 (1). 97-110, (In Farsi).
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askary, H., Hosseini, S.M. and Rahaie, M. (2015).** Effects of TiO₂ NPs on alleviation of drought negative effects in wild pear seedlings. *Plant Ecosystem Conversation*. 3 (6): 81-94, (In Farsi).
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, H., Hosseini, S.M., Rahaie, M., Struve, D. and Striker, G.G. (2014).** Morphological, physiological and biochemical responses to soil water deficit in seedlings of three populations of wild pear tree (*Pyrus boisseriana*). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 18(3): 353-366.