The University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

Homepage: http:// ijhs.ut.ac.ir/

Effect of Different Irrigation Regimes on Leaf Proline Content, Antioxidant Enzymes Activity and Fruit Quantitative and Qualitative Characteristics of ‘Rabbab’ Pomegranate

Alireza Bonyanpour[1]✉ , Mohammad Ali Shahrokhnia [2]

1. Corresponding Author, Crop and Horticultural Science Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center,(AREEO) Shiraz, Iran.. E-mail: arbonyanpour@yahoo.com
2. Agricultural Engineering Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, (AREEO) Shiraz, Iran E-mail: mashhrogh@yahoo.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 19 November 2023

Received in revised form: 7 May 2024

Accepted: 1 June 2024

Published online: Atumn 2024

Keywords:

Aril paleness,

fruit quality,

antioxidants,

irrigation regims.

ABSTRACT

Pomegranate *(Punica granatum*) is a subtropical tree that is cultivated in many regions of Iran with . temperate and subtropical climates. In recent years, climatic changes and decrease in annual rainfall prevailed in the most pomegranate growing areas has affected the growth and fruiting of trees in pomegranate orchards. In order to evaluate the responses of ‘Rabbab’ pomegranate tree to different irrigation regimes, the present study was carried out during 2019 and 2020 in Koh-Chenar city in Fars province. The experiment was conducted in the form of a randomized complete block design with three replications in two consecutive years The irrigation regimes applied to the pomegranate trees consisted of control (orchard irrigation with 15,000 m^3 of water), irrigation at 35%, 50%, 65% and 80% soil moisture depletion. The results showed that reducing the amount of irrigation water decreased yield by %22 to % 40 in all low irrigation treatments. Irrigation at 65 and 80% of moisture depletion also significantly decreased the fruit weight by 12 to %28 and aril dry weight. The highest amount of proline (0.476 µmol/ leaves fresh weigh) was observed in 80% soil moisture depletion. The activity of antioxidant enzymes also increased with the reduction of irrigation water, so that the highest activity of catalase enzymes (0.47 u/mg protein/min.) and superoxide dismutase (1. 0.47 u/mg protein/min) were observed in 50% soil moisture depletion. According to the changes in antioxidant activities and the average of fruit weight, aril weight and percentage of aril paleness, it can be concluded that ‘Rabbab’ pomegranate tree can tolerate water deficit up to 50% soil moisture depletion and maintain fruit quality, but the higher levels of soil moisture depletion (65 and 80%) cause a decrease in the quantitative and qualitative characteristics of the fruit and yield, and increase the percentage of aril paleness.

Cite this article: Bonyanpour, A. R. & Shahrokhnia, M. A. (2024). Effect of Different Irrigation Regimes on Leaf Proline Content, Antioxidant Enzymes Activity and Fruit Quantitative and Qualitative Characteristics of .Rabbab’ Pomegranate. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 55 (3), 349-363. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367820.2131

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367820.2131

Extended Abstract

Introduction

Pomegranate (*Punica granatum*) is a subtropical tree that is cultivated in most regions of the Iran. The main areas of pomegranate cultivation in Iran have a hot and dry climate, so drought and heat stress are one of the most important problems of Iranian pomegranate orchards. This has affected the physiological characteristics of the tree, resulting in a reduction in the quantity and quality of the fruit. Some physiological abnormalities such as aril paleness and fruit cracking in pomegranates fruits are caused by water stress, therefore, adjusting the irrigation regimes and determining the tolerance of pomegranate to water deficit is very important. In this research, the quality of pomegranate fruits on different water irrigation regimes were investigated in order to determine the tolerance of pomegranate to drought conditions.

Material and methods

For evaluation of different responses of 'Rabbab' pomegranate trees and fruits to various irrigation regimes, present study was carried out on uniform 'Rabbab' pomegranate trees in Kooh-chenar region, Fars Province, south of Iran. The experiment was conducted in two consecutive years in the randomized complete block design with 3 replications on 15-year-old pomegranate trees. Treatments included: Control (irrigation according to recommended plans suitable for commercial fruit production) and irrigations to field capacity at 35%, 50% ,65% and 80% of soil moisture depletion. In this experiment, some vegetative characteristics such as leaf dry weight, chlorophyll content, leaf proline content, antioxidant activity (superoxidase, catalase and peroxidase) were measured. Fruit characteristics such as aril weight, fruit weight, yield, anthocyanin and phenol contents, acidity and total soluble solids (TSS) of fruit juice were also measured. The amount of fruit juice polyphenols was evaluated using HPLC.

Results and discussion

Our results indicated that 'Rabbab' pomegranate cultivar is able to tolerate mild irrigation deficit (50% soil moisture depletion), since under such conditions, parameters such as leaf chlorophyll content and leaf dry weight did not change and the activity of catalase and superoxide dismutase enzymes raised to the highest amount. The highest amount of proline (0.476 molar in 1g leaf fresh weight) was observed in 80% soil moisture depletion treatment. Regarding fruit characteristics, the reduction of irrigation water resulted in a decrease in fruit weight from 202 g in the control treatment to 137 g in the 80% soil moisture depletion treatment. A similar decrease was observed in arils weight and the yield. The highest aril fresh weight (22 g) was observed in control plants, whereas the lowest weight (15.5 g), was observed in soil moisture depletion of 80%. Different irrigation regimes did not significantly affect the number of arils dry weigh. The highest yield was observed in control trees (89 kg per tree), which was significantly superior to all irrigation treatments. The highest percentage of aril paleness (60%) was observed in 80% soil moisture depletion, while other treatments showed any no significant difference with the control, this could be due to the disturbance in photosynthesis and plant metabolism that occurs in plants subjected to severe conditions. In the present study, fruit quantitative parameters such as fruit weight and aril fresh weight decreased in low irrigation conditions, which was consistent with previous studies. The reduction of irrigation water caused a decrease in nitrogen absorption and increase in the accumulation of potassium in the leaves, so that the minimum amount of nitrogen was observed in 80% soil moisture depletion, and maximum amount of potassium obtained in 65% soil moisture depletion The analysis of polyphenols in pomegranate fruit juice showed that the highest hesperidin, gallic acid and ellagic acid amount observed in the 80% soil moisture depletion treatment, which had a significant difference with most of the treatments and the control. The amount of coumaric acid was the highest in the 35% soil moisture depletion treatment, while the highest amount of vanillin was observed in the 50% soil moisture depletion treatment. Under drought stress condition, the synthesis of some polyphenolic compounds changes, which may be related to modifications in the activity of certain genes.

Conclusion

According to the results of this study, 'Rabbab' pomegranate could tolerate mild to moderate drought stress. Reducing irrigation water to 50% soil moisture depletion had a small effect on some characteristics, such as leaf chlorophyll concentration, aril dry weight and plant performance, whereas reducing the soil moisture to more than 50% resulted in an increase in fruit disorders like aril paleness and significant decrease in quantity and quality of the fruit.

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۵، شماره ۳

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

Homepage: http://ijhs.ut.ac.ir//

اثر تیمارهای مختلف آب آبیاری بر میزان پرولین، فعالیت ضد اکسایش برگ و خصوصیات کمی و کیفی میوه انار رقم رباب

علی رضا بنیان پور[1] ✉ | محمد علی شاهرخ نیا[2]

۱. نویسنده مسئول، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، شیراز ، ایران. رایانامه: arbonyanpour@yahoo.com

۲. بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، شیراز ، ایران. رایانامه: mashhrogh@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۲

تاریخ انتشار: پاییز ۱۴۰۳

کلیدواژه‌ها:

سفید شدگی آریل، کیفیت میوه، ضد اکسایشی ، رژیم آبیاری.

چکیده

انار با نام علمی *L. Punica granatum* درختی نیمه گرمسیری است که در بسیاری از مناطق ایران کشت می شود. شرایط مناسب آب و هوایی جهت رشد و نمو و باردهی انار آب و هوای معتدل تا نیمه گرم می باشد که این شرایط در بسیاری از نقاط ایران وجود دارد . تغییر شرایط جوی و کاهش بارندگی سالیانه که در سال‌های اخیر در بیشتر مناطق انارکاری حکم فرما شده است باعث ایجاد تنش در باغات انار گردیده و رشد و نمو و باردهی درختان را تحت تاثیر قرار داده است. به این لحاظ برای ارزیابی واکنش درخت انار رقم رباب به رژیم‌های مختلف آبیاری، پژوهش حاضر در طی سال–های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در شهرستان کوه چنار در استان فارس انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و به مدت دو سال متوالی انجام شد. پنج تیمار آبیاری شامل، شاهد (آبیاری باغ توسط باغدار به میزان ۱۵۰۰۰ متر مکعب در سال) و آبیاری هنگام رسیدن خاک به تخلیه رطوبتی ۳۵ ، ۵۰ ، ۶۵ و ۸۰ درصد بود. نتایج نشان داد کاهش میزان آب آبیاری باعث کاهش میزان عملکرد (۲۲ تا ۴۰ درصد) در تمام تیمارهای کم آبیاری و کاهش معنی‌دار در وزن میوه (۱۲ تا ۲۸ درصد) و وزن خشک آریل در تیمار تخلیه رطوبتی ۶۵ و ۸۰ درصد شد. بیشترین میزان پرولین در تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد به میزان۰/۴۷۶ میکرو مولار در وزن تازه برگ مشاهده شد .فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایش نیز با کاهش آب آبیاری افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۰/۴۷ واحد در دقیقه در میلی گرم پروتئین) و سوپر اکسید دیسموتاز (۱/۰۲۹ واحد در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد مشاهده شد. با توجه به تغییرات مواد ضد اکسایش و متوسط وزن میوه، وزن آریل و درصد دانه سفیدی می‌توان نتیجه گرفت که درخت انار رقم رباب تا تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد را بخوبی تحمل کرده و میوه کیفیت خود را حفظ می‌کند ولی تخلیه رطوبتی بالاتر (۶۵ و۸۰ درصد) باعث کاهش در خصوصیات کمی و کیفی و عملکرد میوه شده و دانه سفیدی میوه افزایش می‌دهد.

استناد: بنیان پور، علی‌رضا؛ و شاهرخ نیا، محمدعلی (۱۴۰۳). اثر تیمارهای مختلف آب آبیاری بر میزان پرولین، فعالیت ضد اکسایش برگ و خصوصیات کمی و کیفی میوه انار رقم رباب. *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۵ (۳)، ۳۶۳-۳۴۹. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367820.2131

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.367820.2131

مقدمه

انار میوه‌ای مغذی با ارزش غذایی و بهداشتی بالا و یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی در ایران است (Jamali & Bonyanpour, 2020). انار میوه‌ای است که کاشت و پرورش آن در ایران از گذشته‌های دور مرسوم بوده است. طبق آخرین آمارهای موجود سطح زیر کشت انار ایران در حدود ۹۰ هزار هکتار و تولید اناردر کشور در حدود یک میلیون تن است که با توجه به این امر ایران در حال حاضر جزو سه کشور مهم تولید کننده انار در سطح جهان می باشد. در این بین استان فارس نیز با دارا بودن حدود ۱۹ هزار هکتار باغ انار از مناطق عمده کشت این محصول در کشور است. میزان تولید انار در استان فارس در حدود ۳۱۴ هزار تن می‌باشد و شهرستان کوه چنار نیز با دارا بودن بیش از ۵۰۰ هکتار باغ انار از مناطق مستعد کشت انار در فارس می باشد (Agricultural statics, 2021). طبق برآوردهای انجام شده درخت انار به منظور تولید میوه خوب و با کیفیت نیازمند آبیاری منظم به میزان حدود ۱۰ تا ۱۲هزار متر مکعب در سال است، اما به علت شرایط گرم و خشک و تنش‌های رطوبتی پیش آمده در اکثر مناطق انارکاری، باغات انار تحت تاثیر تنش‌های خشکی قرار گرفته و مشکلاتی مانند کاهش میزان عملکرد، کاهش کیفیت میوه و همچنین بروز برخی مشکلات فیزیولوژیک مانند ترکیدگی و دانه سفیدی میوه در آن‌ها افزایش یافته است. تنش آبی یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدود کننده رشد، عملکرد و پراکنش گونه‌های گیاهی در سراسر جهان است (Lio *et al*., 2011). فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مختلف مانند فتوسنتز، تبادل گاز، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، جذب مواد مغذی، سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و سایر ترکیبات آلی در اثر خشکسالی تغییر می‌کند (Pagter *et al*., 2005; Šircelj *et al*., 2005). اگرچه انار بومی مناطق خشک و نیمه خشک جهان است، اما پتانسیل سازگاری ارقام مختلف انار متفاوت است این می‌تواند به تفاوت‌های بین ارقام از لحاظ جذب عناصر غذایی، پروفایل ضد اکسایشی آنزیمی و غیر آنزیمی مختلف و تنظیم کننده‌های رشد درون‌زای گیاه مربوط باشد. با این حال، شرایط محیطی نقش مهمی در این زمینه دارد و ممکن است پاسخ نهایی گیاه را تغییر دهد (Bonyanpour & Jamali 2020). بررسی تاثیر کاهش آب آبیاری در باغات و تعیین آستانه کاهش میزان آب آبیاری به گونه‌ای که بتواند ضمن حفظ کیفیت میوه باعث تولید اقتصادی در باغات گردد از مواردی است که می‌تواند باعث حل بسیاری از مشکلات موجود گردد. بنابراین، در این پژوهش تاثیر مقادیر مختلف آب آبیاری (بر اساس تخلیه رطوبت خاک) روی کیفیت میوه و سایر ویژگی‌های فیزیولوژیک انار رقم رباب به‌منظور تعیین آستانه تحمل این رقم در شرایط تنش خشکی بررسی شد.

پیشینه پژوهش

مطالعات انجام شده در مورد پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درخت انار (به ویژه در مواجه با تنش‌ها) در مقایسه با بسیاری از دیگر گونه‌های پراهمیت باغبانی محدود است. ارقام انار از نظر پاسخ به تنش‌ها و شرایط نامساعد محیطی با یکدیگر متفاوتند (Okhovatian-Ardakani, *et al*., 2010; Naeini *et al*., 2006). پژوهش‌های انجام شده در این رابطه نشان‌دهنده تاثیر تنش‌های محیطی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک در ارقام مختلف انار می‌باشد. زمان آبیاری درخت انار با توجه به تخلیه رطوبتی خاک در حدود ۴۰ تا ۴۷ درصد گزارش شده است (Bugueño *et al*, 2016; Tavousi *et al*., 2016) در رابطه با تاثیر تنش خشکی در خصوصیات کمی و کیفی میوه در تحقیقی که روی سه رقم انار ملس ساوه، میخوش و رباب در مقادیر مختلف تنش خشکی انجام گردید مشخص شد ویژگی‌های مختلف میوه مانند وزن میوه، تعداد میوه و عملکرد با افزایش تنش خشکی کاهش یافت، در حالی که میزان برخی آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند کاتالاز، سوپر اکسیددیسموتاز، پراکسیداز و اسکوربیک پر اکسیداز افزایش یافت (Zahedi *et al*., 2022). این در حالی است که Gómez-Bellot *et al*., (2023) گزارش کردند که تنش خشکی تاثیر مثبتی در افزایش برخی مواد بیواکتیو موجود در آب میوه انار مانند پلی فنول‌ها، پپتیدها و تانن‌ها دارد و با تنظیم مقدار آب آبیاری می‌توان سنتز این گونه مواد را افزایش داد. بررسی اثر مقادیر مختلف پرولین نیز در سه رقم انار نشان داد که میزان پرولین موجود در گیاه با توجه به تغییرات آب و هوایی متغیر است، به طوری که در سال‌های گرم و خشک مقدار

پرولین افزایش می‌یابد (Halilova & Yildiz, 2010). کم آبیاری بسته به اینکه در چه دوره فنولوژیکی گیاه اتفاق بیفتد می‌تواند روی کنترل زمان رسیدن میوه، افزایش خصوصیات کیفی میوه و بهبود شرایط نگهداری پس از برداشت تاثیر بگذارد. کاهش آب در شرایط خشکی به‌صورت کلی سبب جذب محدود و کمتر عناصر و در نتیجه غلظت کمتر آن‌ها در بافت‌های مختلف گیاه می‌شود (Jaleel *et al*., 2009). یکی از اثرات مهم تنش خشکی اختلال در جذب عناصر مختلف در قسمت ریشه و انتقال به اندام‌های هوایی گیاه است. کاهش جذب در نتیجه مختل شدن مکانیسم‌های ورود عناصر به سلول‌های ریشه و تخلیه آن‌ها در اندام هوایی و کاهش جریان تبخیر و تعرق رخ می‌دهد (Garg, 2003). همچنین تنش خشکی باعث تغییر ویژگی‌های میوه و همچنین مقدار مواد جامد محلول کل(TSS[1]) و اسید قابل تیتراسیون (TA[2])، میزان الاژیک اسید اب میوه و پرولین در سه رقم انار ملس، میخوش و رباب هنگامی که تحت مقادیر کم، متوسط و زیاد تنش خشکی قرار گرفتند شد(Pourghayumi *et al*., 2017). این پژوهش نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش وزن میوه به میزان ۳۰ تا ۴۱ درصد، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به میزان ۲۳ تا ۳۹ درصد، کاهش تعداد میوه به میزان ۳۹ تا ۴۴ درصد و کاهش عملکرد به میزان ۵۸ تا ۶۸ درصد شد. خشکی میزان اسید و قند میوه را نیز بطور معنی‌داری کاهش داد. دسترسی منابع آب و آبیاری برای کشت و کار انار از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و بسته به وضعیت خاک و اقلیم در حدود ۱۲ هزار متر مکعب آب در هر هکتار برای آبیاری انار لازم است (Holland, *et al*., 2009). واکنش ارقام مختلف انار به رژیم های آبیاری متفاوت است. بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری بر رشد، میزان کلروفیل و عملکرد درختان انار در کشور مصر نشان داد که میزان کلروفیل و عملکرد محصول به طور قابل توجهی تحت تأثیر مقدار آب مصرفی قرار دارند (Khattab *et al*., 2011). همچنین مشخص شده است که پاسخ‌های فیزیولوژیک درخت انار مانند بیان ژن‌ها و تغییر در فعالیت ضد اکسایش‌های آنزیمی در ارقام مختلف متفاوت است و ارقام مختلف پاسخ های متفاوتی در هنگام مواجه با تنش خشکی از خود نشان می‌دهند (Pourghayoumi *et al*., 2017).

روش شناسی پژوهش

این پژوهش طی دو سال متوالی (سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰) در یک باغ انار واقع در منطقه نودان شهرستان کوه‌چنار استان فارس انجام شد. ارتفاع این منطقه از سطح دریا حدود ۹۰۰ متر، میزان متوسط بارندگی سالیانه ۵۲۵ میلی‌متر و آب و هوای آن نیمه گرمسیری است. حداکثر دمای مطلق ثبت شده این منطقه ۴۷ درجه سلسیوس و حداقل آن ۲- درجه سلسیوس می‌باشد. خاک باغ تحت آزمایش با دارا بودن ۴۴ درصد شن، ۴۰ درصد سیلت و ۱۶ درصد رس در کلاس بافتی متوسط (لومی) قرار گرفت. مقدار جرم مخصوص ظاهری خاک، ظرفیت مزرعه ای و رطوبت نقطه پژمردگی خاک منطقه آزمایش به ترتیب ۱/۴۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب، ۱۹ و ۹ درصد وزنی اندازه گیری شد. شوری آب و خاک بترتیب ۱/۳۱ و ۰/۵۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. جهت انجام آزمایش درختان یکنواخت و ۱۵ ساله انار رقم رباب که به فاصله ۵ در ۵ متر کشت شده بودند گزینش شدند. طرح آماری مورد استفاده جهت اجرای پروژه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. درختان به روش آبیاری قطره‌ای آبیاری گردیده و برنامه‌های مدیریت باغ شامل کوددهی، مبارزه با آفات و بیماری‌ها و کنترل علف‌های هرز با توجه به توصیه‌های بهینه موجود و بر اساس تجزیه و تحلیل نمونه‌های خاک و آب انجام شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از پنج سطح آبیاری شامل: شاهد (آبیاری باغدار به میزان حدود ۱۵۰۰۰ متر مکعب)، آبیاری در تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد، آبیاری در تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد، آبیاری در تخلیه رطوبتی ۶۵ درصد و آبیاری در تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد.

تیمارهای آبیاری از ابتدای فصل رشد و هم زمان با شروع آبیاری درختان توسط باغدار آغاز شد و تا زمان برداشت میوه ادامه یافت. به‌منظور اعمال سطوح مختلف آبیاری، رطوبت خاک دو بار در هفته با استفاده از دستگاه رطوبت سنج بلوک گچی

1. Total Soluble Solid
2. Total Acidity

(ساخت شرکت ایجل کمپ[1]) که در عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک کار گذاشته شده بود اندازه گیری می‌شد و با رسیدن خاک به میزان تخلیه رطوبتی مورد نظر (بر اساس تخلیه رطوبتی ذکر شده در هر تیمار) نسبت به آبیاری درختان تا رسیدن به رطوبت مزرعه‌ای اقدام گردید. میزان آب آبیاری هر تیمار با کنتور حجمی اندازه‌گیری و اعمال شد. به منظور بررسی تاثیر تنش‌های رطوبتی روی صفات بیوشیمیایی، نمونه‌های برگ در اواسط مرداد ماه از جهت‌های مختلف درختان (شمال، جنوب، غرب و شرق) گرفته شد. به این منظور ۲۵ عدد برگ کاملا رشد کرده بالغ از یک سوم میانی شاخه‌های رشد بهاره که بدون میوه انتهایی بودند انتخاب شد. این برگ‌ها از ۴ طرف همه درختان (۱۰۰ برگ در هر درخت به عنوان نمونه) چیده شده و در کاغذ آلومینیوم پیچیده شد و بلافاصله درون ازت مایع قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل شد تا اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی روی آن‌ها انجام شود. از برگ‌هایی با علائم غیرطبیعی مانند کلروز و ضایعات مکانیکی ناشی از آفات یا بیماری‌ها اجتناب شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی زیر در طی انجام پژوهش اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری ماده خشک برگ ها

جهت اندازه‌گیری محتوای ماده خشک برگ، سه برگ یکنواخت انتخاب و با آب شسته و پس از خشک شدن با ترازو دیجیتال توزین و سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و توزین شدند. درصد ماده خشک برگ با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه ۱) [وزن خشک برگ (گرم)/وزن تر برگ (گرم)] ×۱۰۰ = مواد خشک برگ(درصد)

اندازه گیری میزان کلروفیل کل (a+b) برگ ها

یک گرم نمونه برگی تازه با پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سپس سانتریفیوژ (g× 8000، برای ۱۰ دقیقه) شد. محلول رویی جداسازی و دوباره پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه و سانتریفیوژ تکرار شد. این عمل سه مرتبه تکرار گردید. در نهایت تمام محلول‌های رویی با یکدیگر تلفیق و حجم نهایی با استون ۸۰ درصد به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس نمونه‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد و با استفاده از رابطه ۲ غلظت کلروفیل(a+b) برگ محاسبه و به صورت میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر گزارش گردید. نمونه بلانک استون ۸۰ درصد بود (Lichtenthalter, 1987).

رابطه ۲)

$$\text{غلظت کلروفیل برگ} = \{(۷/۱۵\ A۶۶۳)+(۱۸/۷A۶۴۵) \times v /۱۰۰۰ \times W\}$$

A663: جذب نوری در طول موج ۶۶۳ نانومتر، A645: جذب نوری در طول موج ۶۴۵ نانومتر

W: وزن نمونه‌ها به گرم V: حجم نهایی محلول استخراج به میلی‌لیتر

اندازه گیری میزان پرولین برگ‌ها

جهت استخراج و تعیین غلظت پرولین از روش Bates *et al*. (1973) استفاده شد. قطعات برگ با اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد همگن و هموژنه شدند سپس مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه (۳۰۰۰ × g) سانتریفیوژ شد. مایع رویی با اسید استیک و نایِن هیدرین تیمار شد، سپس به مدت یک ساعت جوشانده شد و جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد. محتوای پرولین به صورت میکرومول در گرم وزن تازه بیان شد.

1Eijelkamp

استخراج آنزیم ها

برای استخراج آنزیم‌ها ابتدا، ۰/۵ گرم برگ با نیتروژن مایع و در هاون آسیاب شد و سپس با دو میلی‌لیتر بافر استخراج حاوی پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱۰ درصد (w/v) در ۵۰ میلی مولار پتاسیم فسفات (pH=8) همگن شدند. ۰/۱ میلی مولار اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، یک میلی مولار دی‌تیوتریتول (DTT). مخلوط هموژنه حاصل در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۵۰۰۰ × g) شد. سپس محلول رویی جمع آوری شد. (Beauchamp C, 1971 & Fridovich I.)

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Dhindsa *et al.* (1981) اندازه‌گیری شد. به این منظور ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از مخلوط واکنش حاوی ۱۳ میلی‌مولار متیونین، ۲۵ میلی‌مولار کلرید تترازولیوم نیترو بلو (NBT)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=7.8) و۵۰ میلی‌مولار کربنات سدیم آمیخته شد. واکنش با افزودن دو میلی‌مولار ریبوفلاوین و قرار دادن لوله‌ها در زیر دو لامپ فلورسنت ۱۵ واتی به مدت ۱۵ دقیقه آغاز شد. یک مخلوط واکنش کامل بدون آنزیم، که حداکثر رنگ را می‌دهد، به عنوان کنترل عمل می‌کند. واکنش با خاموش کردن چراغ‌ها و نگه داشتن لوله‌ها در تاریکی متوقف شد. یک مخلوط واکنش کامل بدون تابش به عنوان بلنک استفاده شد. میزان جذب در ۵۶۰ نانومتر با استفاده از طیف سنج نوری اندازه گیری شد و یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان آنزیم در نظر گرفته شد که قرائت جذب را به ۵۰ درصد در مقایسه با لوله‌های فاقد آنزیم کاهش داد. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به صورت واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش اسپکتروفتومتری و طبق روش Chance & Maehly (1955) با پایش کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر ناشی از مصرف H_2O_2 اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از مخلوط واکنش که حاوی ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=7) و ۱۵ میلی مولار H_2O_2 بود تهیه شد. واکنش با افزودن ۵۰ میکرولیتر عصاره خام به این محلول آغاز شد. فعالیت کاتالاز به عنوان واحد (میکرومول H_2O_2 مصرف شده در دقیقه) در هر میلی گرم پروتئین بیان شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز با روش Chance & Maehly (1955) تعیین شد. ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج با یک میلی لیتر از مخلوط واکنش حاوی ۱۳ میلی مولار گوایاکول، پنج میلی مولار H_2O_2 و ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=7) آمیخته شد. افزایش میزان جذب ناشی از اکسیداسیون گایاکول (ضریب خاموشی: ۲۶٫۶ میلی مولار در دقیقه) در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از طیف سنج نوری اندازه گیری و بررسی شد. فعالیت پراکسیداز به عنوان واحد میکرو مول گایاکول اکسید شده در دقیقه) در هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

اندازه گیری عناصر ماکرو و میکرو برگ

برای تعیین عناصر غذایی ماکرو و میکرو، از اندام هوایی خشک شده در تنوره استفاده شد. نمونه‌های خشک شده (۰/۵ گرم) آسیاب شده و در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس در بوته چینی به مدت ۶ ساعت خاکستر شدند. خاکستر سفید با کلریدریک اسید داغ دو مولار مخلوط و فیلتر شد و در نهایت حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر رسید. غلظت پتاسیم (K) نمونه‌ها با

1. Poly Vinyl Pyrolidin
2. Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid
3. 1,4-Dithiothreitol

استفاده از روش انتشار شعله با استفاده از نورسنج شعله اندازه‌گیری شد. از اسپکتروفتومتر جذب اتمی برای تعیین غلظت عناصر ریز مغذی شامل آهن، روی، منگنز و مس استفاده شد. مقدار نیتروژن (N) با استفاده از روش هضم کجلدال و مقدار فسفر (P) به روش کالریمتری تعیین شد (Kalra, 1998).

اندازه گیر ی خصوصیات فیزیکی میوه

میوه‌ها از ابتدای تیر ماه تا زمان برداشت (۳۰ مهر) از نظر زمان شروع دانه سفیدی آریل و درصد سفیدی دانه بررسی شدند. متوسط وزن ۱۰ عدد میوه و وزن ۵۰ عدد آریل با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد، سپس آریل‌ها در آون خشک و وزن خشک آریل‌ها تعیین شد. میوه‌ها به صورت دستی آبگیری شدند و از آب میوه برای آنالیز بیوشیمیایی و تعیین برخی پارامترهای کیفی استفاده شد.

اندازه گیری خصوصیات بیوشیمیایی آب میوه

مواد جامد محلول کل (TSS) بر اساس درجه بریکس و با استفاده از رفرکتومتر اندازه‌گیری شد. اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) با رساندن اسیدیته عصاره با استفاده از محلول ۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم به ۸/۱ (pH= ۸/۱) تعیین و به‌صورت درصد بیان شد. غلظت اسید اسکوربیک در میوه‌ها به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. به این منظور به ۱۰۰ میکرولیتر آب میوه، ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید یک درصد اضافه شد. سپس به یک میلی‌لیتر از این مخلوط، ۹ میلی‌لیتر ایندوفنل (۵۰ میکرومولار) افزوده و مخلوط شد و میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر با طیف‌سنج نوری خوانده شد. منحنی کالیبراسیون با غلظت اسید اسکوربیک شناخته شده تهیه شد. نتایج به صورت میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب میوه بیان شد (Jamali & Eshghi , 2014). جهت اندازه‌گیری پلی فنول کل یک میلی‌لیتر آب میوه با ۵ میلی لیتر معرف فولین سیکالتو (که قبلاً ۱۰ برابر با آب مقطر رقیق شده بود) و چهار میلی لیتر بی‌کربنات سدیم (۷/۵ درصد w/v) مخلوط شد و مخلوط با آب مقطر تا ۱۰۰ میلی لیتر رقیق شد. محلول به مدت دو ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از طیف سنج نوری اندازه‌گیری شد. محتوای پلی فنولیک کل به عنوان معادل اسید گالیک (غلظت اسید گالیک از یک منحنی کالیبراسیون مشخص شد) در میلی‌گرم بیان شد.

اندازه گیری پلی فنول های آب میوه با HPLC

جهت بررسی تاثیر تنش خشکی بر میزان هر یک از پلی فنول‌های موجود در آب میوه انار، ابتدا سه میلی‌لیتر آب میوه سانتریفیوژ شد (۸ دقیقه در ۵۰۰۰ × g) و مایع باقی مانده از یک فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد. آنالیز کروماتوگرافی بوسیله دستگاه HPLC (مدل Agilent Technologies 1200) انجام شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. اندازه‌گیری در طول موج‌های ۳۲۰ و ۲۸۰ نانومتر و دمای آون ۳۰ درجه سلسیوس انجام گردید. برنامه شویش گرادیان و ترکیب در صد حلال‌ها به صورت زیر انتخاب شد. در زمان شروع نسبت فرمیک اسید یک درصد و اتانول (۹۰:۱۰)، در زمان ۱۰ دقیقه (۷۵:۲۵) در زمان ۲۰ دقیقه (۶۰:۴۰)، در زمان ۳۰ دقیقه (۷۰:۳۰) و در زمان ۴۰ دقیقه (۳۰:۷۰) بود. سرعت شویش یک میلی لیتر بر دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. کالیبراسیون بر اساس روش Misena *et al.*,(2011) انجام شد. میانگین داده‌های دوسالانه توسط MSTAC تجزیه و تحلیل شد و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

نتایج

میانگین ماده خشک برگ، میزان کلروفیل و پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز در رژیم‌های مختلف آبیاری در جدول ۱ نشان داده شده است. تیمارهای آبیاری اثر معنی‌داری بر میزان ماده خشک برگ و میزان کلروفیل نداشتند. غلظت پرولین برگ با افزایش میزان تنش خشکی افزایش یافت بیشترین میزان پرولین برگ در تیمار ۸۰

درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شدکه تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. بالاترین سطح فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۴۷ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد مشاهده شد که به‌طور قابل توجهی بیشتر از تیمارهای شاهد، ۳۵ درصد و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی بود. بالاترین سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۱۷۲واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شدکه در مقایسه با تیمارهای ۳۵ درصد و ۶۵ درصد به‌طور معنی داری بیشتر بود. بیشترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای شاهد، ۶۵ درصد و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی نشان داد. افزایش تخلیه رطوبتی به بالاتر از۵۰ درصد باعث کاهش قابل توجهی در فعالیت این آنزیم شد.

جدول ۱. تاثیر تیمارهای مختلف آبیاری بر وزن خشک، میزان کلروفیل، پرولین و فعالیت ضد اکسایشی برگ انار.

تیمارهای آبیاری	پرولین (میکرو مولار در وزن تازه برگ)	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز
		(واحد در دقیقه در میلی گرم پروتئین)		
شاهد	۰/۴۱۵^{b}	۰/۱۵۷^{bc}	۰/۱۱۲^{ab}	۰/۸۱۱^{b}
تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد	۰/۴۵۸^{b}	۰/۰۹۲^{c}	۰/۰۸۷^{b}	۰/۹۴۹^{ab}
تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد	۰/۴۱۷^{b}	۰/۴۷۰^{a}	۰/۱۱۴^{ab}	۱/۰۲۹^{a}
تخلیه رطوبتی ۶۵ درصد	۰/۴۰^{ab}	۰/۳۸۷^{ab}	۰/۰۷۷^{b}	۰/۳۴۳^{c}
تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد	۰/۴۷۶^{a}	۰/۲۲^{bc}	۰/۱۷۲^{a}	۰/۴۹۰^{c}

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می باشد.

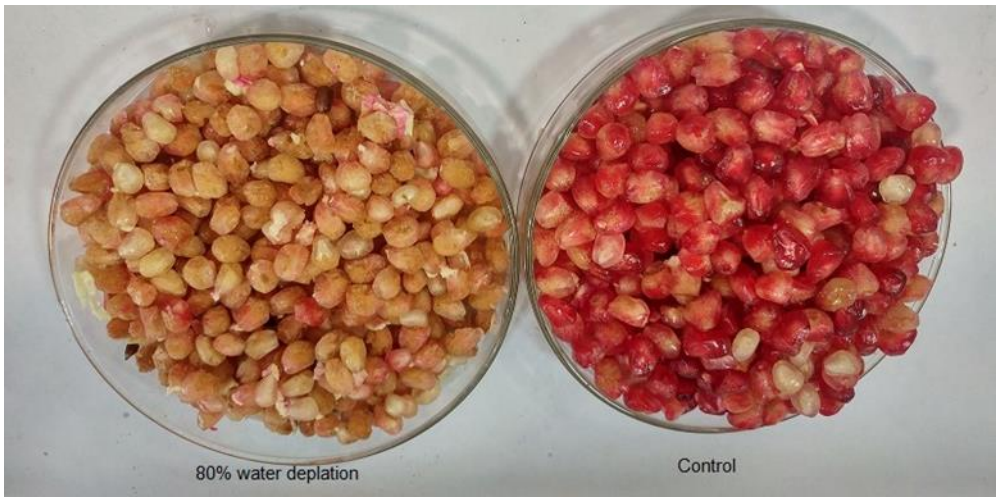
جدول ۲ تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری را روی برخی از ویژگی‌های کمی و کیفی میوه نشان می‌دهد. بیشترین وزن میوه در درختان شاهد (۲۰۲/۵ گرم) و کمترین آن در ۸۰ درصد تخلیه رطوبت خاک (۱۳۷/۵ گرم) مشاهده شد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد. بیشترین وزن‌تر آریل در درختان شاهد (۲۲ گرم) و کمترین وزن تر آریل (۱۵/۵ گرم) در تیمار ۸۰ درصد تخلیه رطوبت خاک مشاهده شد که کاهش معنی‌داری را در وزن آریل نشان داد. رژیم‌های مختلف آبیاری باعث تفاوت معنی‌داری در وزن خشک آریل‌ها نشدند. بالاترین عملکرد میوه در درختان شاهد (۸۹ کیلوگرم در درخت) مشاهده شد که تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشت. درختانی که در تیمار تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد، ۵۰ درصد، ۶۵ درصد و ۸۰ درصد آبیاری شدند به ترتیب ۲۱، ۲۶، ۳۳ و ۴۱ درصد کاهش عملکرد داشتند. مقادیر مواد جامد محلول، اسیدیته کل، فنول کل و اسید اسکوربیک آب میوه تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفتند.

جدول ۲. تاثیر تیمارهای مختلف آبیاری برخصوصیات کمی و کیفی میوه انار

تیمارهای آبیاری	میانگین وزن ۱۰ میوه (گرم)	وزن تر ۵۰ عدد آریل (گرم)	عملکرد (کیلوگرم در درخت)	سفیدی آریل (درصد)
شاهد	۲۰۲/۵^{a}	۲۲^{a}	۸۹/۰^{a}	۳۳/۳۳^{b}
تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد	۱۷۷/۵ ^{ab}	۱۶/۸۳^{ab}	۷۰/۸^{b}	۲۳/۳۳^{b}
تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد	۱۶۴/۷۵ ^{ab}	۱۷/۶۶^{ab}	۶۵/۲^{bc}	۳۶/۶۷^{b}
تخلیه رطوبتی ۶۵ درصد	۱۴۶^{b}	۱۷/۳۳^{b}	۵۸/۸^{cd}	۳۰/۰۰^{b}
تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد	۱۳۷/۵^{b}	۱۵/۵^{b}	۵۲/۵^{d}	۶۰/۰۰^{a}

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می باشد.

بررسی میزان سفیدشدگی آریل در تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین درصد سفیدشدگی آریل‌ها در تیمار ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی و به میزان ۶۰ درصد مشاهده شد (شکل ۱) میزان سفید شدگی آریل در این تیمار نسبت به شاهد و سایر تیمارها تا میزان ۱۰۰درصد افزایش داشت، این درحالی است که سایر تیمارها با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).



شکل ۱. سفید شدگی دانه انار در اثر تنش خشکی

اثر مقادیر مختلف آب آبیاری بر غلظت عناصر غذایی ماکرو و میکرو برگ نشان داد که بیشترین غلظت نیتروژن برگ (۱/۴۱۴ درصد) در گیاهان شاهد مشاهده شد که در مقایسه با گیاهان آبیاری شده با ۸۰ درصد تخلیه رطوبت خاک به طور معنی‌داری بیشتر بود و با سایر تیمارها تفاوت معنی داری نداشت. بیشترین غلظت پتاسیم برگ (۱/۳۰۷ درصد) در گیاهان آبیاری شده با ۶۵ درصد تخلیه رطوبت خاک مشاهده شد که در مقایسه با شاهد و گیاهان آبیاری شده در ۳۵ درصد تخلیه رطوبت خاک از نظر آماری متفاوت بود. بیشترین غلظت روی در برگ‌ها در درختان آبیاری شده در ۵۰ درصد تخلیه رطوبت خاک (۲۷/۳۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک) مشاهده شد که بجز با شاهد با دیگر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت. بیشترین غلظت مس (۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک برگ) در تخلیه رطوبت ۶۵ درصد مشاهده شد که در مقایسه با شاهد و درختان آبیاری شده در تیمار ۵۰ درصد تفاوت معنی‌داری داشت. غلظت فسفر، آهن و منگنز برگ در تمامی تیمارهای آبیاری از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

جدول ۳. تاثیر تیمارهای مختلف آبیاری میزان عناصر ماکرو میکرو در برگ انار

تیمارهای آبیاری	نیتروژن (درصد)	پتاسیم (درصد)	روی (میلی گرم در یک کیلو وزن خشک)	مس (میلی گرم در یک کیلو وزن خشک)
شاهد	۱/۴۱۴ a	۰/۸۶۰ b	۱۴/۹۰ b	۴/۹۴ b
تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد	۱/۳۳۱ ab	۰/۹۸۳ b	۲۰/۸۹ a	۶/۰۸ a
تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد	۱/۳۹۱ ab	۱/۰۳۳ ab	۲۷/۳۷ a	۴/۸۵ b
تخلیه رطوبتی ۶۵ درصد	۱/۳۸۷ ab	۱/۳۰۷ a	۲۳ a	۷/۰۰ a
تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد	۱/۳۰۷ b	۱/۱۱۳ ab	۲۴ a	۶/۳۳ a

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می باشد.

تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر غلظت برخی از پلی‌فنول‌های موجود در آب میوه در جدول ۴ نشان داده شده است. بیشترین میزان اسیدکوماریک (۶/۸۸ میلی‌گرم در لیتر) در تیمار ۳۵ درصد تخلیه رطوبت خاک مشاهده شد که در مقایسه با شاهد و گیاهان آبیاری شده با ۶۵ درصد و ۸۰ درصد تخلیه رطوبت خاک تفاوت معنی‌دار آماری داشت. کاهش رطوبت خاک باعث افزایش محتوای الاژیک اسید در تمامی تیمارها نسبت به شاهد شد. مقدار اسید الاژیک با افزایش سطح تنش خشکی افزایش یافت، بطوری که تمام تیمارهای کم آبیاری مقادیر بالاتری را در رابطه با این پلی فنول نشان دادند. بالاترین میزان این پلی‌فنول در ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی ۱۸/۵۴ میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین میزان اسید گالیک در درختان آبیاری شده در ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی ۵۷۶ میلی گرم در لیتر بدست آمد که در مقایسه با سایر تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی دار داشت. بیشترین غلظت هسپردین در درختان آبیاری شده در ۸۰ درصد کاهش رطوبت خاک ۲۲/۹۹ میلی‌گرم در لیتر بود، رژیم‌های کم آبیاری از نظر میزان هسپریدین تفاوت معنی‌داری نداشتند. بیشترین مقدار وانیلین در تیمار ۵۰ درصد کاهش رطوبت خاک ۱۳/۱۹ میلی‌گرم در لیتر بود که در مقایسه با گیاهان آبیاری شده در ۶۵ درصد تخلیه رطوبت خاک تفاوت معنی‌دار داشت.

جدول ۴. تاثیر تیمارهای مختلف آبیاری بر میزان تجمع برخی پلی فنول‌ها در آب میوه انار رباب.

تیمارهای آبیاری	هسپریدین	گالیک اسید	الاجیک اسید	پی – کوماریک اسید	وانیلین
	(میلی گرم در لیتر)				
شاهد	۶/۸۳^{b}	۴۲۰/۱^{b}	۱۵/۰۲^{b}	۴/۱۷۰^{b}	۱۱/۴۷^{ab}
تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد	۱۱/۱۷^{b}	۴۴۸/۹^{b}	۱۷/۳۴^{ab}	۶/۸۸^{a}	۱۰/۰۷^{ab}
تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد	۱۱/۴۵^{b}	۴۸۶/۴^{b}	۱۸/۱۲^{a}	۶/۵۳^{a}	۱۳/۱۹^{a}
تخلیه رطوبتی ۶۵ درصد	۹/۰۵^{b}	۴۳۱/۹^{b}	۱۶/۵۲^{ab}	۵/۰۶۷^{b}	۷/۳۵^{b}
تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد	۲۲/۹۹^{a}	۵۷۶^{a}	۱۸/۵۴^{a}	۴/۸۹۷^{b}	۹/۸۷^{ab}

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می باشد.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی و کم آبیاری تاثیر مستقیمی روی خصوصیات فیزیولوژیکی درخت انار و ویژگی‌های کمی و کیفی آن دارد. مقدار ماده خشک برگ و میزان کلروفیل در مطالعه حاضر تغییر معنی‌داری نداشت. این می‌تواند به دلیل شروع تنش آبی پس از اتمام رشد برگ‌های انار باشد زیرا که بطور معمول تنش‌های رطوبتی در فصول گرم سال و زمانی که رشد برگ‌های انار کامل شده رخ می‌دهد. در واقع پتانسیل آب بالای برگ در شرایط تنش شدید خشکی باعث افزایش توانایی گیاه در ادامه فعالیت‌های متابولیکی و حفظ سیستم‌های حفاظتی گیاه جهت جلوگیری از تخریب کلروفیل می‌گردد (Pourghayoumi *et al*.,2017). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که درخت انار تنش‌های کم و متوسط را بخوبی تحمل کرده و در این شرایط با افزایش میزان آنزیم‌های ضد اکسایشی تحمل گیاه به شرایط نا مناسب محیطی افزایش می یابد با این وجود در تنش خشکی زیاد فعالیت برخی از آنزیم‌های ضداکسایش مانند کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز دچار اختلال می‌گردد و این امر تاثیر مستقیم خود را در کاهش عملکرد و اندازه میوه و بروز ناهنجاری فیزیولوژیک مانند دانه سفیدی نشان داد. تاثیر افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایش (SOD، CAT و POD) به عنوان بخشی از پاسخ حفاظتی گیاه تحت تنش آبی قبلا گزارش شده است (Abedi & Pakniat, 2010 ؛ Liu *et al*.,2011 ,. Slabbert & Kruger, 2014). شدت خشکی بالاتر از آستانه تحمل گیاه پاسخ‌های ضداکسایشی را مختل کرده و منجر به تخریب بیومولکول‌ها و غیرفعال شدن آنزیم‌ها می‌شود (Taiz & Zeiger, 2010). این می‌تواند دلیل کاهش فعالیت SOD در شرایط کم آبیاری شدید (۶۵ و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی) در یافته‌های ما باشد. در تحقیق حاضر، شاخص‌های کیفی میوه مانند وزن میوه و وزن‌تر آریل در شرایط کم آبیاری کاهش یافت که با مطالعات قبلی مطابقت داشت. Rad *et al*. (2015) گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش پارامترهای کیفی

میوه انار مانند وزن میوه و آریل شد. یافته‌های مشابهی توسط Martinez *et al*.,(2007) گزارش شده است. با این حال، در یک بررسی نشان داده شد که سطوح مختلف آبیاری (شرایط تنش آبی ملایم و شدید) به‌طور معنی‌داری بر سرعت رشد میوه تأثیری نداشت (Parvizi *et al*., 2016). همزمان با کاهش میزان آب برگ، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش سرعت رشد و نمو سلولی رخ می‌دهد و با تشدید تنش آبی، متابولیسم کل و فرآیندهای آنزیمی مختل و خاتمه می‌یابد. میزان دانه سفیدی میوه که یک عارضه فیزیولوژیک در انار می‌باشد در درختان انار که در ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک آبیاری شدند بیشتر بود. این می‌تواند به دلیل اختلال در فتوسنتز و متابولیسم باشد زیرا که جهت ساخت و تجمع آنتوسیانین در گیاه نیاز به برخی مواد پیش‌ساز از جمله قندها می‌باشد و کاهش در میزان قند می‌تواند در سنتز آنتوسیانین تاثیر منفی داشته باشد (Gao-Takai *et al*., 2019; Carmona *et al*., 2021;). گیاهان در شرایط تنش خشکی قند ساخته شده را جهت تولید موادی که در افزایش تحمل گیاه به خشکی تاثیر دارند مصرف می‌کنند، این امر همراه با کاهش جذب آب و کاهش جذب برخی عناصر غذایی مانند نیتروژن منجر به کاهش سنتز مواد پیش ساز جهت رشد ونمو میوه گردیده و منجر به کاهش عملکرد و وزن میوه می‌گردد. با این حال، در بررسی حاضر افزایش میزان تنش خشکی تا حدودی باعث افزایش برخی پلی فنول‌ها که نقش ضد اکسایشی دارند شد این نتایج با گزارش Gómez-Bellot *et al*. (2023) هم‌خوانی دارد که این امر را ناشی از فعال شدن برخی مکانیسم‌های دفاعی گیاه که منجر به سنتز برخی پلی فنول‌ها می‌گردد مربوط دانست. گیاهان تحت استرس دارای سیستم‌های حفاظتی برای غلبه بر آسیب اکسیداتیو با سنتز متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنولی هستند (Blokhina *et al*., 2003) افزایش سطح پلی‌فنول‌ها در مقادیر متوسط خشکی (۵۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک) را می‌توان به تاثیر مثبت کاهش آب آبیاری در افزایش میزان سنتز برخی ترکیبات فنولی مربوط دانست. بنظر می‌رسد در شرایط تنش خشکی پروفایل سنتز برخی ترکیبات پلی‌فنولی تغییر کرده و یا به عبارت دیگر در شرایط تنش خشکی بیان ژن‌های موثر در سنتز پلی فنول‌ها تغییر می‌کند که این امر در رابطه با گیاهانی مانند زیتون (Merchi *et al*., 2020) و گوجه‌فرنگی (André *et al*., 2009) مشاهده شده است در گزارش Espades *et al*., (2019) تنش خشکی در گیاه پاپایا ظرفیت ضد اکسایشی و محتوای ترکیبات فنولی را افزایش داد. چندین ترکیب فنولی در برگ‌های پاپایا به طور انحصاری تحت تنش خشکی شناسایی شد. همچنین گزارش شده است که تنش خشکی باعث افزایش ترکیبات تغذیه‌ای و زیست فعال، اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و ضد اکسایش‌ها در آمارانتوس سه رنگ می‌گردد (Sarker & Oba, 2020). شدت آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن عمدتاً به تعادل آن بین تولید و حذف توسط سیستم مهار ضد اکسایشی بستگی دارد (Jamali *et al*., 2016).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که درخت انار می‌تواند تنش‌های خشکی خفیف تا متوسط را تحمل کند. مقادیر متوسط تنش خشکی تا حدود ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک روی ویژگی‌های اندازه‌گیری‌شده مانند مقدار کلروفیل برگ، وزن خشک آریل و ویژگی‌های کمی و کیفی میوه انار رقم رباب تاثیر منفی نداشت و تاثیر آن روی عملکرد درختان نیز کم بود. اما کاهش رطوبت خاک به بیش از ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی می‌تواند منجر به افزایش اختلالاتی مانند دانه سفیدی آریل به‌همراه کاهش شدید میزان عملکرد وخصوصیات کمی و کیفی میوه انار گردد.

منابع

آمارنامه کشاورزی (۱۴۰۰). وزارت جهاد کشاورزی معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات.

راد، محمدهادی؛ اصغری، محمدرضا؛ و عصاره، محمد حسن (۱۳۹۴). تاثیر تنش خشکی در رشد، عملکرد و کیفیت میوه انار رقم رباب در شرایط تنش خشکی. ۳۱-۲(۱)، ۷۵-۹۰.

REFERENCES

Abedi, T & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten

cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 46(1), 27–34. http://dx.doi.org/10.17221/67/2009-CJGPB

Agricultural statics. (2021). Ministry of Jihad and Agriculture, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center. (In Persian)

André, C. M, Schafleitner, R., Legay, C., Lefèvre, I., Alvarado Aliaga, C., Nomberto, J., Hoffmann, L., Hausman, J., Larondelle, Y. & Evers, D. (2009). Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistery*, 70(9), 1107-1116. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.008

Bates, L. S., Waldren, R. P & Teave, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060.

Beauchamp C, Fridovich I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochemistery*, 44(1):276-87. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8.

Blokhina, O., Vitolainen, E. & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annales of Botany*. 91, 179–194. http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcf118

Bonyanpour, A. R. & Jamali, B. (2020). Seasonal enzymatic and non-enzymatic antioxidant in seven Iranian pomegranate cultivars. *Advances in Horticultural Science*, 34(3), 265-276. https://doi.org/10.13128/ahsc-8283

Bugueño, F., Livellara, N., Varas, F., Undurraga, P., Castro, M., & Salgado, E. (2016). Responses of young Punica granatum plants under four different water regimes. *Ciencia e Investigacion. Agraria*, 43(1), 49-56. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202016000100005

Carmona, L., Alquézar, B., Diretto, G., Sevi, F., Malara, T., Lafuente, M. T. & Peña, L. (2021). Curing and low-temperature combined post-harvest storage enhances anthocyanin biosynthesis in blood oranges. *Food and Chemistry*, 16, 342, 128334. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128334

Chance, B., & Maehley, A. C. (1955). Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8

Dhindsa, R. S., Dhindsa, P. P. & Thorpa, T. A. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93

Espades, J. L., Castagn, O. E. & Marina, M. L. (2019). Phenolic compounds increase their concentration in *Carica papaya* leaves under drought stress. *Acta Physiology Plantarum*. 41, 180. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-019-2972-0

Gao-Takai, M., Katayama-Ikegami, A., Matsuda, K., Shindo, H., Uemae, S. & Oyaizu, M. (2019). A low temperature promotes anthocyanin biosynthesis but does not accelerate endogenous abscisic acid accumulation in red-skinned grapes. *Plant Science*, 283, 165-176. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.01.015

Garg, B. K. (2003). Nutrient uptake and management under drought: nutrient-moisture interaction. *Environmental Science, Biology*, 27, 1–8. https://doi.org/10.1201/9780824746728.CH12

Gómez-Bellot, M. J., Garcia, C. J., Parra, A., Vallejo, F. & Ortuño, M. F. (2023). Influence of drought stress on increasing bioactive compounds of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. Exploratory study using LC–MS-based untargeted metabolomics approach. *European Food Research and Technology*, 249(11), 2947–2956 https://doi.org/10.1007/s00217-023-04340-8

Halilova, H. & Yildiz, N. (2010). Does climate change have an effect on proline accumulation in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruits? *Scientific Research and Essay*, 4(12), 1543-1546.

Holland, D., Hatib, K., & Bar-Yáakov, I. (2009). Pomegranate: botany, horticulture, breeding. In: *Horticultural Reviews*, Janick, J. (ed.), Vol. 35, John Wiley and Sons, Inc. 127-191.

Jamali, B. & Eshghi, S. (2014). Application timing of nitric oxide ameliorates on deleterious effects of salinity on growth and fruit quality of strawberry cv. 'Selva'. *Journal of Berry Research*, 4(3),137–145.

Jamali, B., Eshghi, S. & Kholdebarin, B. (2016). Changes in antioxidant activities of strawberry cv. 'Selva' as affected by salicylic acid application timing under saline conditions. *Journal of Berry Research*. 6(3), 291-301. DOI:10.3233/JBR-160130

Jamali, B. & Bonyanpour, A. R. (2018). Comparison of fruit quality characteristics and polyphenolic compounds in seven Iranian pomegranate cultivars. *Horticulture International Journal*. 2(6), 469–473. http://dx.doi.org/10.15406/hij.2018.02.00098

Jaleel, C. A. & Llorente, B. E. (2009). Drought stress in plants: A review on water relations. *Bioscience Research*. 6(1), 20-27.

Kalra, Y.P. (Ed.) (1998). Handbook of reference methods for plant analysis. CRC Press, New York, USA. https://doi.org/10.1201/9780367802233

Khattab, M., Shaban, A., El-Sherif, A. & El-Deen Mohammad, A. (2011). Growth and productivity of pomegranate trees under different irrigation levels I: Vegetative growth and fruiting, *Journal of Horticultural Science and ornamental Plants*, 3(2), 194-198

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods Enzymology*. 148, 350-382.

Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. & Tang, R. (2011). Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 174–183. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.11.012

Martinez, J. P., Silva, H., Ledent, J. F., & Pinto, M. (2007). Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.*). European. Journal of Agronomy*, 26(1), 30–38. https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.08.003

Merchi, B., Tekaya, M., Hemamai, M., Chehab, H. (2020). Effects of drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown olive trees (*Olea europaea*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 92, 104-112. http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2020.104112

Misan A. C., Mimica-Dukic N. M., Mandic A. I., Sakac M. B., Milovanovic, I. L., & Sedej, I. J. (2011). Development of a rapid resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolic compounds in crude plant extracts. *Central European Journal of Chemistery*, 9(1), 133-142. http://dx.doi.org/10.2478/s11532-010-0126-8.

Naeini, M. R., Khoshgoftarmanesh, A. H. & Fallahi, E. (2006) Partitioning of chlorine, sodium, and potassium and shoot growth of three pomegranate cultivars under different levels of salinity, *Journal of Plant Nutrition*, 29(10), 1835-1843. https://doi.org/10.1080/01904160600899352

Okhovatian-Ardakani, A. R., Mehrabanian, M., Dehghani, F. & Akbarzadeh, A. (2010). Salt tolerance evaluation and relative comparison in cuttings of different pomegranate cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 56(4), 176-185. https://doi.org/10.17221/158/2009-PSE.

Pagter, M., Bragato, H. & Brix, H. (2005). Tolerance and physiological responses of *Phragmites australis* to water deficit. *Aquatic Botany*, 81(4), 285-299. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2005.01.002

Parvizi, H., Sepaskhah, A. R. & Ahmadi, S. H. (2016). Physiological and growth responses of pomegranate tree (*Punica granatum* (L.) cv. Rabab) under partial root zone drying and deficit irrigation regimes. *Agricultural Water Management*, 163,146–158. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.09.019

Pourghayumi, M., Rahemi, M., Bakhshi, D., Alami, A. & Kamgar-Haghighi, A. A. (2017). Responses of pomegranate cultivars to severe water stress and recovery: changes on antioxidant enzyme activities, gene expression patterns and water stress responsive metabolites. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(2), 321–330. https://doi.org/10.1007/s12298-017-0435-x

Rad, M. H., Asghari, M. & Asareh M. H. (2015). The Effects of drought stress on growth, yield and fruit quality of Pomegranate *(Punica granatum* L.) cv. Rababe under dry climate condition. *Seed and plant production*,31 (1), 75-90. https://doi.org/10.22092/sppj.2017.110567 (In Persian)

Sarker, U. & Oba, S. (2020). Phenolic profiles and antioxidant activities in selected drought-tolerant leafy vegetable amaranth. *Scientific Report*. 10, 18287 https://doi.org/10.1038/s41598-020-71727-y

Šircelj, H., Tausz, M., Grill, D. & Bati, F. (2005). Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *Journal of Plant Physiology*, 162, 1308-1318. doi:10.1016/j.jplph.2005.01.018

Slabbert, M & Kruger, G. (2014). Antioxidant enzyme activity, proline accumulation, leaf area and cell membrane stability in water stressed *Amaranthus* leaves. *South African Journal of Botany*, 95, 123–128. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.08.008

Taiz, L. & Zeiger, E. (2010) Plant Physiology. Sinauer Associates Inc, USA.

Tavousi, M., Kaveh, F., Alizadeh, A., Babazadeh, H., and Tehranifar, A. (2015). Effects of drought and salinity on yield and water use efficiency in pomegranate tree. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(7), 1975-1980.

Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Daneshvar Hakimi Meybodi, N., Abadía, J., Germ, M., Gholami, R. & Abdelrahman, M. (2022) Evaluation of drought tolerance in three commercial pomegranate cultivars using photosynthetic pigments, yield parameters and biochemical traits as biomarkers, *Agricultural Water Management.* 261(25), 107357, https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107357.