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

انار با نام علمی *Punica granatum* L. 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 انار کاری 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 سال‌های 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 به طوری 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 تغییرات مشاهده شده در متوسط وزن میوه، وزن آریل و درصد دانه سفیدی می‌توان نتیجه گرفت که درخت انار رقم رباب تا تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد ( معادل ۷۵۰۰ متر مکعب آبیاری) را بخوبی تحمل کرده و میوه کیفیت خود را حفظ می کند ولی تخلیه رطوبتی بالاتر (۶۵ و۸۰ درصد به ترتیب آبیاری به میزان ۵۷۰۰ و ۴۸۰۰ متر مکعب) باعث کاهش در خصوصیات کمی و کیفی و عملکرد شده و دانه سفیدی میوه افزایش یافت.

*واژه های کلیدی: سفید شدگی آریل، کیفیت میوه، ضد اکسایشی ، رژیم آبیاری*

Pomegranate *(Punica granatum*) is a subtropical tree that is cultivated in many regions of the Iran. The suitable climatic conditions for the growth and fruiting of pomegranates are moderate to subtropical climates, which exist in many parts of Iran. In recent years, change in climatic conditions and the decrease in annual rainfall that has prevailed in most of the pomegranate growing areas caused tension in the pomegranate orchards and has affected the growth and fruiting. 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 and for two consecutive years. Five irrigation treatments included, control (orchard irrigation with 15,000 cubic meters of water) and irrigation when the soil reached 35, 50, 65 and 80% soil moisture discharge. The results showed that reducing the amount of irrigation water caused a decrease in yield (%22 to % 40) in all low irrigation treatments and a significant decrease in fruit weight (%12 to %28) and aril dry weight in 65 and 80% moisture depletion treatments. The highest amount of proline was observed in 80% moisture discharge at the rate of 0.476 (µmol/ leaves fresh weight). The activity of antioxidant enzymes also increased with the reduction of irrigation water, so that the highest activity of catalase enzymes (0.47 protein $mg^{1}$. $^{-}$min. O) and superoxide dismutase (1.029 protein $mg^{1}$. $^{-}$min. O) were observed in 50% moisture depletion. According to the changes in antioxidant activities and the observed changes in average fruit weight, aril weight and percentage of aril paleness, it can be concluded that the pomegranate tree of the Rabbab cultivar has tolerated well up to 50% moisture depletion (Equivalent to 7500 cubic meters of irrigation) and the fruit has maintained its quality, but the depletion Higher soil humidity (65 and 80 percent, respectively, irrigation in the amount of 5700 and 4800 cubic meters ) caused a decrease in the quantitative and qualitative characteristics of the fruit and yield, and the aril paleness of the fruit increased.

*Key word: Aril paleness, fruit quality, antioxidants, irrigation regims*

## ۱.مقدمه

انار میوه‌ای مغذی با ارزش غذایی و بهداشتی بالا و یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی در ایران است (Jamali & Bonyanpour 2017). 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 شهر ستان کوه چنار نیز با دارا بودن بیش از ۵۰۰ هکتار باغ انار از مناطق مستعد کشت انار در فارس می باشد (آمارنامه کشاورزی، ۱۴۰۰). طبق برآوردهای انجام شده درخت انار به منظور تولید میوه خوب و با کیفیت نیازمند آبیاری منظم و به میزان حدود ۱۰ تا ۱۲هزار متر مکعب در سال است با این وجود به علت شریط گرم و خشک و تنش‌های رطوبتی پیش آمده در اکثر مناطق انار کاری 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 فیزیولوژیکی 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 درون زای 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. بنابر این در این پژوهش تاثیر مقادیر مختلف آب آبیاری (بر اساس تخلیه رطوبت خاک) روی کیفیت میوه و سایر ویژگی‌های فیزیولوژیک انار رقم رباب برر سی شد تا بتوان آستانه تحمل این رقم را در شرایط تنش خشکی تعیین نمود.

## ۲.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.*, 2004). 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 (Tavoosi *et al*, 2015; Bugueno *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 یافته 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 در گزارش Gómez-Bellot *et al.*,(2023) عنوان گردیده 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. مقادیر مختلف پرولین نیز در سه رقم انار برر سی شد و مشخص گردید 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, 2000) . 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 گذارد. کاهش آب در شرایط خشکی به صورت کلی سبب جذب محدود و پایین‌تر عناصر و غلظت کمتر آن‌ها در بافت‌های مختلف گیاه می شود (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 TSS، TA، 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,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. باید در نظر داشت که دسترسی منابع آب و آبیاری برای کشت و کار انار از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و بسته به وضعیت خاک و اقلیم در حدود ۱۰ 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( Khatab *et al*., 2017). همچنین مشخص شده 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).

## ۳.روش شناسی پژوهش

این پژوهش طی دو سال متوالی (سال‌های ۱۳۹۹و 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 دارای آب و هوای نیمه گرمسیری است. حداکثر دمای مطلق ثبت شده این منطقه ۴۷ درجه سانتیگراد و حداقل آن ۲- درجه سانتیگراد می‌باشد. خاک باغ تحت آزمایش با دارا بودن ۴۴ درصد شن، ۴۰ درصد سیلت و ۱۶ درصد رس در کلاس بافتی متوسط (Loam) 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 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. تیمار ها شامل:

۱. شاهد (آبیاری باغدار به میزان حدود ۱۵۰۰۰ متر مکعب)

۲. آبیاری درختان هنگام تخلیه رطوبتی به میزان ۳۵ درصد ( میزان آب آبیاری در این تیمار حدود ۸۳۰۰ متر مکعب بود)

۳. آبیاری درختان هنگام تخلیه رطوبتی به میزان ۵۰ درصد (میزان آب آبیاری در این تیمار حدود ۷۵۰۰ متر مکعب بود)

۴ آبیاری درختان هنگام تخلیه رطوبتی به میزان ۶۵ درصد (میزان آب آبیاری در این تیمار حدود ۵۸۰۰ متر مکعب بود)

۵. آبیاری درختان هنگام تخلیه رطوبتی به میزان ۸۰ درصد (میزان آب آبیاری در این تیمار حدود ۴۷۰۰ متر مکعب بود)

رطوبت خاک دو بار در هفته با استفاده از دستگاه رطوبت سنج بلوک گچی (ساخت شرکت ایجل کمپ[1]) که در عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک کار گذا شته شد بود اندازه گیری شد و با ر سیدن خاک به میزان تخلیه رطوبتی مورد نظر ( بر ا ساس تخلیه رطوبتی ذکر شده در هر تیمار) نسبت به آبیاری درختان تا ر سیدن به رطوبت مزرعه‌ای اقدام گردید. میزان آب آبیاری هر تیمار با کنتور حجمی اندازه گیری شد و در پایان آزمایش میزان آب آبیاری در هر تیمار محا سبه گردید. به منظور برر سی 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 بدون میوه انتهایی که رشد بهاره 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 بلافا صله درون ازت مایع قرار گرفت و به آزمای شگاه منتقل شد تا اندازه‌گیری‌های بیو شیمیایی 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.

**۳-۱. اندازه گیری ماده خ شک 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 سانتی‌گراد خشک و توزین شدند. درصد ماده خشک برگ با فرمول زیر محاسبه شد:

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

**۳-۲. اندازه گیری میزان کلروفیل کل (a+b) برگ ها:** یک گرم نمونه برگی تازه با کمک ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سپس سانتریفیوژ ( 8000 ×g، برای ۱۰ دقیقه) شد. محلول رویی جداسازی و دوباره ۵ 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 اسپکترو فتومتر در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد و به کمک فرمول‌های زیر غلظت کلروفیل( a+b) برگ محاسبه و به صورت میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر گزارش گردید. نمونه blank استون ۸۰ درصد بود (Lichtenthaler, 1987).

غلظت کلروفیل برگ (میلی‌گرم در وزن تر): {(۷/۱۵ A۶۶۳)+(۱۸/۷A۶۴۵) × v /۱۰۰۰ × 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

**۳-۳. اندازه گیری میزان پرولین برگ‌ها:** جهت استخراج و تعیین غلظت پرولین از روش (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. قطعات برگ با ا سید سولفو سالی‌سیلیک ۳ در صد همگن و هموژنه شدند سپس به مدت ۲۰ دقیقه (۳۰۰۰ × g) سانتریفیوژ شد. مایع رویی با ا سید ا ستیک و ناین هیدرین تیمار شد، سپس به مدت یک ساعت جو شانده شد و جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد. محتویات پرولین به صورت میکرومول در گرم وزن تازه بیان شد.

**۳-۴. ۱ ستخراج آنزیم ها:** برای استخراج آنزیم‌ها ابتدا، نیم گرم برگ در نیتروژن مایع با هاون آسیاب شدند و سپس ۲ میلی‌لیتری بافر استخراج حاوی ۱۰ درصد (w/v) پلی وینیل پیرولیدون (PVP) در ۵۰ میلی مولار پتاسیم فسفات (pH=8) همگن شدند. ۰/۱ میلی مولار اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA)، یک میلی مولار دی‌تیوتریتول (DTT). هموژنه (۱۵۰۰۰ × g) در ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مواد رویی جمع آوری شد.

1-Eijelkamp

**۳–۵. اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش (Dhindsa *et al.*, 1973) اندازه‌گیری شد به این منظور 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) ، ۵۰ میلی‌مولار کربنات سدیم و ۰/۱ میلی‌لیتر آنزیم بود تهیه شد. واکنش با افزودن ۲ میلی مولار 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. جذب در ۵۶۰ نانومتر ثبت 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.

**۳–۶. 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 (µmol $H_2O_2$ مصرف شده در دقیقه) در هر میلی گرم پروتئین بیان شد.

**۳–۷. اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز**

فعالیت پراکسیداز با روش (Chance & Maehly, 1955) تعیین شد. یک میلی لیتر از مخلوط واکنش حاوی ۱۳ میلی مولار گوایاکول، ۵ میلی مولار $H_2O_2$ و ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=7) بود. افزایش جذب ناشی از اکسیداسیون گایاکول (ضریب خاموشی: ۲۶٫۶ $mM^{-1}.cm-1$) در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه بررسی شد. فعالیت پراکسیداز به عنوان واحد میکرو مول گایاکول اکسید شده در دقیقه) در هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

**۳–۸. اندازه گیری عناصر ماکرو و میکرو برگ**

برای تعیین عناصر غذایی ماکرو و میکرو، از نمونه‌های خشک شده در تنوره از بخش اندام هوایی استفاده شد. نمونه‌های خشک شده (۰/۵ گرم) آسیاب شده و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد در بوته چینی به مدت ۶ ساعت خاکستر شدند. خاکستر سفید در HCl داغ ۲ مولار مخلوط شده، فیلتر شد و در نهایت با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر رسید. غلظت پتاسیم (K) نمونه‌ها با استفاده از روش انتشار شعله با استفاده از نور سنج شعله اندازه‌گیری شد. اسپکتروفتومتر جذب اتمی برای تعیین غلظت عناصر ریز مغذی شامل آهن، روی، منگنز و مس از روش (Kalra, 1998) استفاده شد غلظت نیتروژن (N) با استفاده از روش هضم Kjeldahl اندازه گیری شد (Kalra, 1998). غلظت فسفر (P) به صورت کالریمتری تعیین شد (Kalra, 1998).

**۳–۹. اندازه گیری خصوصیات فیزیکی میوه**

میوه‌ها از ابتدای تیر 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 و به گرم گزارش شد، سپس آریل‌ها در آون خشک و وزن خشک آریل ها به گرم تعیین شد. میوه‌ها به صورت دستی آبگیری شدند و از آب میوه برای آنالیز بیوشیمیایی و تعیین برخی پارامترهای کیفی استفاده شد.

**۳–۱۰. اندازه گیری خصوصیات بیوشیمیایی آب میوه**

ویراستاری نشده

TSS (کل مواد جامد محلول): بر اساس درجه بریکس (Brix) و با استفاده از رفرکتومتر اندازه‌گیری شد. اسیدیته قابل تیتراسیون (TAدرصد) با رساندن به pH= ۸/۱ با محلول ۰/۱ مولار NaOH تعیین و به عنوان 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 با طیف‌سنج در طول موج ۵۱۵ نانومتر 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 (Eshghi and Jamali, 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 ۴ میلی لیتر بی‌کربنات سدیم (۷/۵ در صد w/v) مخلوط شد و مخلوط با آب مقطر تا ۱۰۰ میلی لیتر رقیق شد. محلول به مدت ۲ ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. محتوای پلی فنولیک کل به عنوان معادل اسید گالیک (غلظت اسید گالیک از یک منحنی کالیبراسیون مشخص شد) در میلی‌گرم بیان شد.

### ۳-۱۱. 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 ۳ میلی‌لیتر آب میوه در یک لوله اپندورف سانتریفیوژ شد (۸ دقیقه در ۵۰۰۰ × g) و مایع باقی مانده سانتریفیوژ از یک فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد. آنالیز کروماتوگرافی بوسیله دستگاه HPLC سری Agilent Technologies 1200 انجام شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. اندازه‌گیری در طول موج‌های ۳۲۰ و ۲۸۰ نانومتر و دمای آون ۳۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. برنامه شویش گرادیان و ترکیب در صد حلال‌ها به صورت زیر انتخاب شد. در زمان شروع نسبت فرمیک اسید ۱٪ 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 ۱میلی لیتر بر دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر انجام گردید. کالیبراسیون بر اساس روش Misena *et al.*,(2011) انجام شد.

میانگین داده‌های دو سالانه توسط MSTAC تجزیه و تحلیل شد و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

## ۴. نتایج

اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر ماده خشک برگ، میزان کلروفیل و پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز 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 و بیشترین میزان پرولین در تیمار ۸۰ درصد مشاهده شدکه تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها در سطح ۵ درصد نشان داد. بالاترین سطح فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۴۷ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد مشاهده شد که به طور قابل توجهی در مقایسه با تیمارهای شاهد، ۳۵ درصد و ۸۰ در صد تخلیه رطوبتی بیشتر بود. بالاترین سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۱۷۲واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۸۰ در صد تخلیه رطوبتی مشاهده شدکه در مقایسه با تیمارهای ۳۵ درصد و ۶۵ درصد به طور قابل‌توجهی بالاتر بود. بیشترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد، ۶۵ درصد و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی نشان داد. افزایش تخلیه رطوبتی به بالاتر از ۵۰ 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 | وزن خشک ۳ عدد برگ ( میلی گرم) | میزان کلروفیل (میلی گرم در وزن تازه برگ) | 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 | ۲۱a | ۴/۲۲۶a | ۰/۴۱۵b | ۰/۱۵۷bc | ۰/۱۱۲ab | ۰/۸۱۱b |
| تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد | ۲۵a | ۵/۷۶۱a | ۰/۴۵۸b | ۰/۰۹۲c | ۰/۰۸۷b | ۰/۹۴۹ab |
| تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد | ۲۶a | ۴/۱۱۶a | ۰/۴۱۷b | ۰/۴۷a | ۰/۱۱۴ab | ۱/۰۲۹a |
| تخلیه رطوبتی ٦۵ درصد | ۱۸a | ۴/۸۶۶a | ۰/۴۰۵b | ۰/۳۸۷ab | ۰/۰۷۷b | ۰/۳۴۳c |
| تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد | ۲۱a | ۴/۵۵۴a | ۰/۴۷۶a | ۰/۲۲bc | ۰/۱۷۲a | ۰/۴۹۰c |

*در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه هستند با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد معنی دار نبودند.

جدول ۲ تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری (آبیاری در ۳۵، ۵۰، ۶۵ و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک) 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 در سطح ۵ درصد 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 میوه نشان داد. رژیم‌های مختلف آبیاری باعث تفاوت معنی‌داری در وزن خشک آریل‌ها نشدند. بالاترین عملکرد در درختان شاهد (۸۹ کیلوگرم در درخت) مشاهده شد که از تمامی تیمارهای آبیاری در سطح ۵ درصد برتر بود. 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. غلظت TSS، TA و اسید اسکوربیک آب میوه در تمامی تیمارها از نظر آماری متفاوت نبود.

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

| تیمارهای آبیاری | متوسط وزن ۱۰ میوه ( گرم) | وزن تر ۵۰ عدد آریل (گرم) | وزن خشک ۵۰ عدد آریل (گرم) | عملکرد (کیلوگرم در درخت) | مواد جامد محلول (درجه بریکس) | اسید کل (٪) | سفیدی آریل(٪) | اسید اسکوربیک (میلی گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه) | فنول کل ( میلی گرم در یک میلی‌لیتر آب میوه) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۲۰۲/۵a | ۲۲a | ۴/۵۶a | ۸۹/۰a | ۱۵/۵a | ۱/۱a | ۳۳/۳۳ b | ۳/۵۰a | ۵/۲۰a |
| تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد | ۱۷۷/۵ab | ۱۶/۸۳ab | ۴a | ۷۰/۸b | ۱۵/۷۳a | ۱/۰a | ۲۳/۳۳ b | ۳/۲۰a | ۵/۱۴a |
| تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد | ۱۶۴/۷۵ab | ۱۷/۶۶ab | ۳/۹۶a | ۶۵/۲bc | ۱۵/۴۳a | ۰/۹۳a | ۳۶/۶۷ b | ۳/۵۶a | ۵/۲۶a |
| تخلیه رطوبتی ٦۵ درصد | ۱۴۶b | ۱۷/۳۳ab | ۳/۹۳a | ۵۸/۸cd | ۱۵/۰۳a | ۰/۹۰a | ۳۰/۰۰ b | ۳/۴۶a | ۴/۷۴a |
| تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد | ۱۳۷/۵b | ۱۵/۵b | ۳/۵a | ۵۲/۵d | ۱۴/۷۰a | ۰/۸۶a | ۶۰/۰۰ a | ۳/۴۶a | ۵/۳۵a |

*در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه هستند با استفاده از آزمون دامنکن در سطح ۵ درصد معنی دار نبودند

بررسی میزان سفید شدگی آریل در تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین درصد سفید شدگی آریل‌ها به میزان ۶۰ درصد در تیمار ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد ( شکل ۱) میزان سفیدشدگی آریل در این تیمار نسبت به شاهد و سایر تیمارها به میزان ۱۰۰درصد افزایش یافته بود که تفاوت معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان داد این درحالی است که سایر تیمارها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

**شکل ۱.** سفید شدگی دانه انار در اثر کم آبیاری خشکی

اثر مقادیر مختلف آب آبیاری (آبیاری در ۳۵، ۵۰، ۶۵ و ۸۰ درصد تخلیه رطوبت خاک) 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 در صد تخلیه رطوبت خاک به طور معنی‌داری بیشتر بود. بیشترین غلظت پتاسیم برگ (۱/۳۰۷ در صد) در گیاهان آبیاری شده با ۶۵ در صد تخلیه رطوبت خاک مشاهده شد که در مقایسه با شاهد و گیاهان آبیاری شده در ۳۵ در صد تخلیه رطوبت خاک از نظر آماری در سطح ۵ درصد 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. بیشترین غلظت مس ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک برگ در تخلیه رطوبت ۶۵ در صد مشاهده شد که در مقایسه با شاهد و درختان آبیاری شده در تیمار ۵۰ در صد 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 (٪) | پتاسیم (٪) | فسفر (٪) | روی (میلی گرم در یک کیلو وزن خشک) | مس (میلی گرم در یک کیلو وزن خشک) |
|---|---|---|---|---|---|
| **شاهد** | ۱/۴۱۴ a | ۰/۸۶۰ b | ۰/۰۸۷a | ۱۴/۹۰b | ۴/۹۴b |
| **تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد** | ۱/۳۳۱ab | ۰/۹۸۳ b | ۰/۱۲۲a | ۲۰/۸۹a | ۶/۰۸a |
| **تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد** | ۱/۳۹۱ab | ۱/۰۳۳ ab | ۰/۰۹۷a | ۲۷/۳۷a | ۴/۸۵b |
| **تخلیه رطوبتی ٦۵ درصد** | ۱/۳۸۷ab | ۱/۳۰۷ a | ۰/۱۲۰a | ۲۳a | ۷/۰۰a |
| **تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد** | ۱/۳۰۷ b | ۱/۱۱۳ ab | ۰/۱۳۶a | ۲۴a | ۶/۳۳a |

*در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه هستند با استفاده از آزمون دامنکن در سطح ۵ درصد معنی دار نبودند

تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر غلظت برخی از پلی‌فنول‌های موجود آب میوه در جدول ۴ نشـان داده شـده اسـت. بیشـترین میزان اسـیدکوماریک (۶/۸۸ میلی‌گرم در لیتر) در تیمار ۳۵ درصـد تخلیه رطوبت خاک مشـاهده شـد که در مقایسـه با شـاهد و گیاهان آبیاری شده با ۶۵ درصد و ۸۰ درصد تخلیه رطوبت خاک تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد داشت. کاهش رطوبت خاک باعث افزایش محتوای الاژیک اسـید در تمامی تیمارها نسـبت به شـاهد شـد. مقدار اسـید الاژیک با افزایش سـطح تنش خشـکی افزایش یافت بطوری که تمام تیمارهای کم آبیاری مقادیر بالاتری را در رابطه با این پلی فنول نشـان 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 در صد تخلیه رطوبتی ۵۷۶ میلی گرم در لیتر بد ست آمد که در مقایسه با سایر تیمارها از نظر آماری در سطح ۵ در صد 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 هسـپریدین تفاوت معنی‌داری نداشـتند. بیشـترین مقدار وانیلین در تیمار ۵۰ درصـد کاهش رطوبت خاک (۱۳/۱۹ میلی‌گرم در لیتر بود که در مقایسـه با گیاهان آبیاری شـده در ۶۵ درصـد تخلیه رطوبت خاک در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار داشت.

**جدول ٤.** 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 | ۴۳۰/۱b | ۱۵/۰۲b | ۴/۱۷۰b | ۱۱/۴۷ab |
| تخلیه رطوبتی ۳۵ درصد | ۱۱/۱۷ b | ۴۴۸/۹b | ۱۷/۳۲ab | ۶/۸۸a | ۱۰/۰۷ab |
| تخلیه رطوبتی ۵۰ درصد | ۱۱/۴۵ b | ۴۸۶/۴b | ۱۸/۱۲a | ۶/۵۳a | ۱۳/۱۹a |
| تخلیه رطوبتی ٦٥ درصد | ۹/۰۵ b | ۴۳۱/۹b | ۱۶/۵۲ab | ۵/۰۶۷b | ۷/۳۵b |
| تخلیه رطوبتی ۸۰ درصد | ۲۲/۹۹ a | ۵۷۶a | ۱۸/۵۴a | ۴/۸۹۷b | ۹/۸۷ab |

*در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه هستند با استفاده از آزمون دامنکن در سطح ۵ درصد معنی دار نبودند

## ۵.بحث

نتایج این پژوهش نشان داد 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 برگ باشد. در واقع پتانسیل آب بالای برگ در شرایط تنش شدید خشکی باعث افزایش توانایی گیاه در ادامه فعالیت‌های متابولیکی و حفظ سـیسـتم‌های 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 نامساعد 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 and Pakniat, 2010؛ Liu *et al.*,2011, Slabbert and 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 and 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. راد و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش پارامترهای کیفی میوه انار مانند وزن میوه و آریل شد. یافته‌های مشابهی توسط Martinez *et al.*, (2015) گزارش شده است. با این حال، بررسی‌ها نشان داد که استراتژی‌های مختلف آبیاری (شرایط تنش آبی ملایم و شدید) به‌طور معنی‌داری بر سرعت رشد میوه تأثیری نداشت (Parvizi *et al.*, 2015). 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 در صد 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 می باشد 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 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 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) 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 (Andre *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 فنول در برگ‌های پاپایا به طور انحصاری تحت تنش خشکی شناسایی شد. همچنین گزارش شده که تنش خشکی باعث افزایش ترکیبات تغذیه‌ای و زیست فعال، اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و ضد اکسایش‌ها در آمارانتوس سه رنگ می‌گردد (Sarker & Oba, 2018). 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 که معادل ۷۵۰۰ متر مکعب آبیاری در طول دوره رشد می‌باشد روی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده 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 در صد تخلیه رطوبتی می‌تواند منجر به افزایش اختلالاتی مانند دانه سفیدی آریل شده و باعث کاهش شدید میزان عملکرد وکاهش خصوصیات کمی و کیفی میوه انار گردد.

## ۶–منابع


آمارنامه کشاورزی. ۱۴۰۰. وزارت جهاد کشاورزی معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات. ۲۳۳ص.

راد، م. ه.، اصغری، م. و عصاره، م. ه. ۱۳۹۴. تاثیر تنش خشکی در رشد، عملکرد و کیفیت میوه انار رقم رباب در شرایط تنش خشکی. ۱(۲) ۳۱: 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*. 46:27–34.

Agriculture Iran statics. (2021). Ministry of Jihad and Agriculture, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center. 233p. (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.

Bates, L.S., Waldren, R.P & Teave, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. .*Plant and Soil*. 39: 205-107

Blokhina, O., Vitolainen, E. & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annales of Botany*. 91:179–194.

Bonyanpour, A.R. & Jamali, B. (2020). Seasonal enzymatic and non enzymatic antioxidant in seven Iranian pomegranate cultivars. *Advances in Horticulture Science*., 34(3): 265-276.

Bugueño, F., Livellara, N., Varas, F., Undurraga, P., Castro, M., and Salgado, E. (2016). Responses of young Punica granatum plants under four different water regimes. *Ciencia e Investigacion. Agraria* 43(1): 49-56.

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*., 342, Article 128334.

Chance, B., & Maehley, A.C. (1955). Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2: 764-775

Dhindsa, R.S., Dhindsa, P.P. & Thorpa, T.A. (1980). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 32:93-101

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. https://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 , pp. 165-176

Garg, B.K. (2003). Nutrient uptake and management under drought: nutrient-moisture interaction. *Current. Agriculture*. 27: 1–8.

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 Technol* 249, 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. 1543-1546.

Holland, D., Hatib, K., & Bar-Yáakov, I. (2009). Pomegranate: botany, horticulture, breeding. In: *Horticultural Reviews*, Janick, J. (ed.), Vol. 35, Wiley-BlackWell Publication, pp. 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(30):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*. 6:291-301.

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.

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

Kalra, Y.P. (1998). Handbook of reference methods for plant analysis. CRC Press, New York, USA, pp. 287

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 Horticulture Science and ornamentals*. 3: 194-198

Livhtenhalter, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods Enzymology*. 148: 350-381.

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*. 71:174–183.

Martinez, J.P., Silva, H., Ledent, J.F., and 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: 30–38.

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.

Misena A. C., Mimica-Dukicb N. M., Mandica A.I., Sakaca M.B., Milovanovica I.L., & Sedeja 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 Chemistery*, 9: 133-142.

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, DOI: 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, 285-299

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. *Agriculture and Water Management* 163:146–158

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.

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.* 1(2) 31:75-90. (In Persian)

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

Šircelgi, 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

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

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: 107357, https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107357.

**Abestract**

# The effect of different irrigation regimes on leaf Perolin content, antioxidant enzymes activity and the quantitative and qualitative characteristics of pomegranate fruit ‘Rabbab

**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 and has caused a reduction in the quantity and quality of the fruit produced. 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 dificit 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 Kazeroon 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 samples (irrigated according to recommended plans suitable for commercial fruit production) and Plants irrigated 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, as well as fruit characteristics such as aril weight, fruit weight, yield, anthocyanin and phenol content , acidity and TSS of fruit juice were also measured. The amount of fruit juice polyphenols was evaluated using HPLC

**Results and discusion**

Our results indicated that ‘Rabbab’ pomegranate cultivar are able to tolerate mild 50 %) irrigation deficit, since under such conditions parameters such as leaf chlorophyll content and leaf dry weight did not change while the highest activity of catalase and superoxide dismutase enzymes was in 50% irrigation deficit treatment. The highest amount of proline was .0476 (molar in 1g leaf f.w) observed in 80% treatment. In relation to fruit characteristics, the reduction of irrigation water caused a decrease in fruit weight from 202 grams in the control treatment to 137 grams in the 80% treatment. A similar decrease was observed in relation to arils weight and the yield. The highest aril fresh weight was in control plants (22 grams), the lowest aril fresh weight was 15.5 grams, which was observed in 80% soil moisture depletion. Different irrigation regimes did not cause a significant difference in the dry weight of arils. The highest yield was observed in control trees (89 kg per tree), which was superior to all irrigation treatments at the level of 5%. The highest aril paleness was observed 80% moisture depletion (aril paleness was 60%) but other treatments did not show any significant difference with the control, this can be due to the disturbance in photosynthesand metabolism that occurs with the reduction of irrigation water in trees. In the present study, fruit quality parameters such as fruit weight, aril wet weight decreased in low irrigation conditions, which was consistent with previous studies. The reduction of irrigation water caused a decrease in nitrogen absorption, so that in treatment 80, the lowest amount of nitrogen was observed, while the decrease in irrigation caused an increase in the accumulation of potassium in the leaves. The analysis of polyphenols in pomegranate fruit juice showed that the highest hesperidin, gallic acid and ellagic acid amount observed in the 80% 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% treatment, while the highest amount of Valtilin was observed in the 50%

treatment. In the conditions of drought stress, the synthesis of some polyphenolic compound changes, which may be related to changes in the activity of some genes under stress conditions

**Conclution**

Pomegranate can tolerate mild to moderate drought stress; reducing irrigation water to 50% had a small effect on some characteristics such as leaf chlorophyll concentration, aril dry weight, and had a small effect on plant performance. But reducing the soil moisture to more than 50% can lead to an increase in disorders such as aril paleness and significant decreases in quantity and quality of the fruit.

***Key word: Aril paleness, fruit quality, antioxidants, irrigation regims***

ویراستاری نشده