تأثیر تنظیم کننده‌های رشد بر کیفیت میوه انار رقم رباب (*Punica granatume* L.) تحت شرایط تنش خشکی

۱- محمد هادی راد، دانشجوی دکتری گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
mohammadhadirad@gmail.com
۲- محمد رضا اصغری، دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۳- محمد حسن عصاره، استاد گروه زیست فنآوری، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۳
پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۱

چکیده

یکی از محدودیت‌های مهم برای رشد و عملکرد مطلوب گیاهان به‌ویژه در مناطق خشک، دسترسی آن‌ها به آب قابل استفاده است. در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای برای سازگار نمودن گیاهان به تنش‌های محیطی و از جمله تنش خشکی صورت گرفته است. در این تحقیق استفاده از دو تنظیم کننده رشد ۲۴- اپی‌براسینولید و جاسمونیک اسید برای بهبود مقاومت به تنش خشکی در انار رقم رباب (*Punica granatume* L.) مورد توجه قرار گرفت. سه سطح آبیاری شامل آبیاری کافی (شاهد)، تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی) و تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) و همچنین نه سطح هورمونی شامل شاهد (آب)، ۲۴- اپی براسینولید (۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر)، جاسمونیک اسید (۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و ترکیب آن‌ها در چهار سطح در دو مقطع زمانی قبل از گلدهی و قبل از رشد سریع میوه با روش محلول‌پاشی روی برگ‌های درختان بارده انار در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اعمال گردید. نتایج نشان داد که بسیاری از متغیرهای شیمیایی و بیوشیمیایی میوه تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند. کاربرد تنظیم کننده‌های رشد ۲۴- اپی‌براسینولید و جاسمونیک اسید موجب تغییر در میزان فنل کل آب و پوست میوه و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب و پوست میوه شد. کاربرد ترکیبی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر۲۴- اپی براسینولید و ۲ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید در شرایط رطوبتی شاهد و تنش خشکی موجب بهبود عملکرد فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه شد. کاربرد ۲ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید در شرایط تنش شدید خشکی موجب بهبود فعالیت آنزیم پراکسیداز آب میوه شد. با این شرایط استفاده از جاسمونیک اسید به تنهایی و یا با ۲۴- اپی براسینولید در غلظت‌های ذکر شده می‌تواند اثر مثبتی بر عملکرد فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه انار داشته باشد.

واژگان کلیدی: جاسمونیک اسید؛ تنش خشکی؛ کیفیت میوه؛ فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

کاهش رطوبت خاک و ایجاد محدودیت برای رشد و نمو گیاه که به عنوان تنش خشکی از آن یاد می‌شود، از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که در بیشتر مناطق کره زمین و بویژه در مناطق خشک و نیمه خشک اتفاق می‌افتد و رشد و عملکرد گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تاثیر تنش خشکی بر رشد، عملکرد، پایداری ساختار و عملکرد غشاء سلولی، تورژسانس سلولی، تطابق اسمزی و روابط آبی گیاه، محتوای رنگدانه‌ها و فعالیت فتوسنتزی، عملکرد و کیفیت میوه و همچنین فعالیت گونه‌های اکسیژن آزاد۱ قابل توجه است [۲۶ و ۲۹].

آسیب‌های ناشی از فعالیت گونه‌های اکسیژن آزاد (تنش ناشی از اکسیداتیو) که ممکن است در پی مداخله طولانی مدت تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله تنش خشکی در گیاه اتفاق افتد، از عوامل مهم و محدود کننده برای گیاه است [۲۶]. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، دارای سیستم دفاعی با کارآیی بالایی هستند که می‌توانند تولید و کارایی رادیکال‌های آزاد را محدود و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های سوپر

[1]. Reactive Oxygen Species (ROS)

Archive of SID
www.SID.ir

اکسید دسموتاز، کاتالاز، پرواکسیداز، آسکوربات پرواکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و همچنین سیستم دفاعی غیرآنزیمی شامل آسکوربات، توکوفرول، کارتنوئیدها و ترکیب‌های متفرقه از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی فنل‌ها است [۶]. تغییر در محتوای درونی مواد تنظیم‌کننده رشد، تسریع در انتقال علائم و به دنبال آن تولید مواد با وزن مولکولی کم و همچنین تولید پروتیئن‌های خاص را به همراه خواهد داشت [۴]. نتیجه این تغییرات، افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی است. کاربرد بیرونی مواد تنظیم کننده رشد، عامل موثری بر بهبود سطح تولید تنظیم کننده‌های رشد درونی گیاه بوده و شرایط را برای افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاه فراهم می‌کند [۴]. از مهم‌ترین مواد تنظیم کننده رشد در این رابطه براسینواستروئیدها[1] و جاسمونات‌ها[2] هستند.

براسینواستروئیدها مقاومت گیاهان به تنش و پاتوژن‌های گیاهی را افزایش داده و می‌توانند جایگزین مناسب برای برخی آفت کش‌ها باشند. در کشاورزی استفاده از این هورمون‌ها برای کاشت گیاهان در شرایط نامطلوب و پرتنش محیطی مثل شرایط خشکی، شوری، گرما، کمبود مواد غذایی و بیماری‌زایی توصیه شده است. نقش براسینواستروئیدها در گیاهان در ایجاد مقاومت در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله سرما، گرما، شوری، خشکی و آسیب‌های ناشی از کاربرد علف کش‌ها تاکید شده است [۹ و ۱۶].

کاربرد بیرونی براسینواستروئیدها می‌تواند میزان آنتی اکسیدان‌های آنزیمی از قبیل سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و اسکوربات پراکسیداز و آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل اسکوربیک اسید، توکوفرولوز[3]، کارتنوئید و گلوتاتیون را بهبود بخشیده و یا میزان آن‌ها را تعدیل کند [۲۷].

براسینواستروئیدها بهبود فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و همچنین اسید آمینه پرولین را به همراه داشته‌اند [۳].

جاسمونیک اسید و متیل جاسمونات دو گروه مهم از جاسمونات‌ها هستند. نقش جاسمونات‌ها در انتقال علایم برای واکنش گیاهان به چندین تنش محیطی ثابت شده است [۱۲]. جاسمونات‌ها همچنین واکنش‌هایی که در گیاه منجر به ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی می‌گردد را تنظیم می‌کند [۱۸ و ۳۰]. جاسمونات‌ها نیز می‌توانند بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه که در اثر آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی، دچار اختلال می‌گردد را تعدیل کنند [۳۵]. استفاده بیرونی از جاسمونیک اسید میزان مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بهبود می‌بخشد [۵ و ۱]. محلول‌پاشی برگی جاسمونیک اسید بر روی گیاه *Agropyron cristatum* که تحت شرایط تنش خشکی پرورش یافت، موجب تنظیم متابولیسم آسکوربات و گلوتاتیون شده و از این طریق، نقش مهمی را در افزایش مقاومت به خشکی ایفا کرد [۳۷]. کاربرد جاسمونیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی روی برگ‌های گندم موجب افزایش مقاومت به شوری از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و همچنین کنترل فعالیت گونه‌های اکسیژن آزاد شد [۳۰].

مواد و روش‌ها

شرایط رشد و اعمال تیمارها

آزمایش روی درختان بارده چهار ساله انار رقم رباب که به فاصله ۴×۳ متر در ایستگاه باغبانی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد کشت و تحت شرایط سیستم بابلر آبیاری شدند، انجام شد. خاک محل آزمایش شنی – لومی و EC آن معادل ۴/۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و pH آن ۷/۲۱ بود. سه سطح آبیاری شامل آبیاری کافی (شاهد)، تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی) و تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) و همچنین نه سطح هورمونی شامل شاهد (آب)، ۲۴- اپی براسینولید[4] (۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر)، جاسمونیک اسید (۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و ترکیب آن‌ها در چهار سطح در دو مقطع زمانی قبل از گلدهی و قبل از رشد سریع میوه به‌صورت

[1]. Brassinosteroid (Brs)
[2]. Jasmonat
[3]. Tocopherolos
[4]. 24-Epibrassinolide (BrL)

Archive of SID

www.SID.ir

محلول‌پاشی روی برگ‌های درختان بارده انار در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار و لحاظ نمودن نه درخت در هر بلوک، بر روی ۱۰۸ درخت اعمال گردید. از توین[1] ۲۰ به عنوان یک چسباننده آلی در تمامی تیمارها و شاهد به مقدار ۰/۰۱ گرم بر لیتر استفاده شد.

تیمارهای رطوبتی از طریق اندازه‌گیری رطوبت خاک به‌وسیله دستگاه رطوبت سنج (TDR مدل TRAM ساخت آلمان) تا عمق توسعه ریشه و در چهار عمق ۲۵-۰، ۵۰-۲۵، ۷۵- ۵۰ و ۱۰۰- ۷۵ سانتی‌متری، اعمال شد. آبیاری تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر اساس درصدی از میزان آب مورد نیاز در شرایط ظرفیت زراعی انجام شد. ورود آب به هر یک از بلوک‌ها، بوسیله کنتورهای نصب شده در هر بلوک اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مولفه‌های شیمیایی و بیوشیمیایی میوه

مواد جامد محلول کل[2]: با استخراج آب میوه، بلافاصله مجموع مواد جامد محلول به‌وسیله دستگاه رفرکتومتر[3] مینی‌دیجیتال[4] ساخت تایوان اندازه‌گیری شد.

اسیدیته قابل تیتراسیون[5]: مقداری از آب میوه نیز جهت تعیین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون مورد استفاده قرار گرفت. برای این امر پس از رقیق‌سازی، نمونه با سود ۰/۱ نرمال تیتر شد که پس از رسیدن اسیدیته به ۸/۲، مقدار سود مصرفی برآورد شد. در ادامه به استناد فرمول ذیل، درصد اسیدیته قابل تیتراسیون بر اساس اسید غالب میوه انار یعنی اسید سیتریک بیان شد.

اسیدیته قابل تیتراسیون ٪= (اسید غالب اکی والان وزن*نرمالیته سود* سود مصرفی)/(۱۰۰۰*وزن نمونه تیتر شده)*۱۰۰

۶۴= وزن اکی والان اسید سیتریک

شاخص رسیدگی میوه (نسبت مواد جامد قابل حل به اسیدیته قابل تیتراسیون): با مشخص شدن میزان مواد جامد قابل حل و همچنین اسیدیته آب میوه، نسبت این دو که شاخص مناسبی برای تعیین میزان رسیدگی میوه است، محاسبه شد.

pH: جهت تعیین pH نمونه‌ها از دستگاه pH متر (مدل متروم-۸۲۷)[6] ساخت سوئیس استفاده شد.

استخراج آنزیم‌های آنتی اکسیدانی: برای استخراج آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در آب میوه از روش مک آدام و همکاران [۲۲] استفاده شد. در این حالت از آب میوه تازه و محلول عصاره‌گیری آنزیم، استفاده شد. نمونه‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بعد از ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند [۱۰].

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از بافر فسفات پراکسیداز، پیروگالل ۵٪ و پراکسید هیدروژن ۳۰٪ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل جنوی[7] در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام شد [۸]. میزان فعالیت بر حسب گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش چانس و ماهلی [۸] و لوهووا و همکاران [۲۱] توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل جن وی در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه و برای هر ۲۰ ثانیه قرائت [۸ و ۲۱] و در پایان بالاترین میزان فعالیت گزارش شد. همچنین از بافر فسفات سدیم ۲۰ میلی‌مولار با pH معادل هفت و ۲۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۳۰ درصد، به عنوان پذیرنده الکترون مورد استفاده قرار گرفت. میزان فعالیت کاتالاز بر حسب فعالیت در دقیقه گزارش شد.

اندازه‌گیری آنتوسیانین کل: آنتوسیانین کل با استفاده از روش اختلاف pH بین دوسیستم بافری اندازه‌گیری شد [۱۳]. در این روش پس از آماده‌سازی عصاره آب میوه و رقیق نمودن آن (۱:۱۰)، در دو بافر با اسیدیته ۱ و ۴/۵، جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. آنتوسیانین کل براساس سیانیدین ۸- گلوکوزاید به عنوان

[1]. Tween
[2]. Total Soluble Solids
[3]. Refract meter
[4]. Mini Digital
[5]. Titrable Acidity
[6]. Metrohm-827
[7]. Jenway

Archive of SID

www.SID.ir

آنتوسیانین غالب انار (میلی‌گرم بر لیتر) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

(۲)

=آنتوسیانین کل (میلی گرم بر لیتر)
[(A×MW×DF×100)/MA]

(۳)

A= (A510 – A700) pH1.0 - (A510 – A700) pH4.5

که در آن:

MW وزن مولکولی آنتوسیانین غالب، DF فاکتور رقت و MA ضریب جذب مولی سیانیدین-۳- گلوکوزاید است.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل: محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین- سیکالته اندازه‌گیری شد [۴۰]. مقدار ۰/۳ میلیلیتر آب میوه رقیق شده (۱:۱۰۰) با ۱/۵ میلیلیتر معرف فولین سیکالته رقیق شده (۱:۱۰)، ترکیب شد. پس از پنج دقیقه ۱/۲ میلیلیتر کربنات سدیم ۷/۵درصد (Na2Co3) به آن اضافه شد و پس از ۱/۵ ساعت در دمای آزمایشگاه و در شرایط تاریکی، جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت و با مقایسه با منحنی استاندارد گالیک اسید که براساس غلظت‌های ۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام رسم شد، محتوای فنل کل براساس میلی‌گرم اسید گالیک بر لیتر آب میوه بیان شد. این امر برای عصاره متانولی پوست انار نیز انجام و محتوای فنل کل بر اساس گرم بر کیلو گرم پوست میوه گزارش شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست و آب میوه بر اساس روش ارائه شده توسط شیمادا و همکاران [۳۸] اندازه‌گیری شد.

از آب میوه رقیق شده با متانول ۸۵٪ به نسبت ۱:۱۰۰ و عصاره متانولی تهیه شده از پوست میوه به میزان ۰/۲ میلیلیتر استفاده شد. از هریک از نمونه‌ها ۵۰۰ میکرولیتر برداشته و با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شد. سپس ۷۵ میکرولیتر از فاز رویی به همراه ۲۹۲۵ میکرولیتر محلول DPPH (۰/۰۰۲۴ گرم DPPH با متانول ۸۵٪ به حجم ۱۰۰ میلیلیتر رسانده شد) ورتکس شد. در آخر جذب نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل جن وی قرائت شد. هم‌زمان با این عمل جذب نمونه کنترل نیز (که به جای عصاره از ۰/۲ میلیلیتر متانول ۶۰٪ استفاده شد) اندازه‌گیری شد. از رابطه زیر فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها محاسبه شد.

(۴)

فعالیت آنتی اکسیدانی (٪) = [AC –AS/ AC]×100

که در آن: AC و As به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه است.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ویژگی‌های شیمیایی میوه، اختلاف معنی‌داری را بین سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد (جدول ۱). با افزایش سطح تنش خشکی، میزان مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون آب میوه افزایش یافت و pH و شاخص رسیدگی آن کاهش پیدا نمود. بیشترین میزان مواد جامد محلول مربوط به تیمار تنش متوسط خشکی با ۱۵/۹۰ درجه بریکس بود که با تیمار تنش ملایم خشکی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. افزایش قابل توجه در میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در تیمار تنش متوسط خشکی (۵/۶۱ درصد) نشانگر تجمع بیشتر اسیدهای آلی در شرایط تنش خشکی در میوه است. کاهش pH و به دنبال آن کاهش شاخص رسیدگی میوه در شرایط تنش متوسط خشکی و وجود اختلاف معنی‌دار با سایر سطوح تیمار رطوبتی نشان داد که هرچند با تشدید تنش خشکی میزان مواد جامد محلول افزایش یافت، ولی به دلیل افزایش قابل توجه اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص رسیدگی میوه کاهش نشان داد. استفاده از تنظیم کننده‌های رشد تاثیری بر ویژگی‌های شیمیایی میوه نداشت و اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف آن‌ها مشاهده نشد (جدول ۱). سطوح مختلف تیمارهای رطوبتی و همچنین سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد، تاثیری بر میزان آنتوسیانین آب میوه نداشتند، بگونه‌ای که بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

در این شرایط مطلوب‌ترین پاسخ مربوط به تیمار تنش ملایم خشکی بود (جدول ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

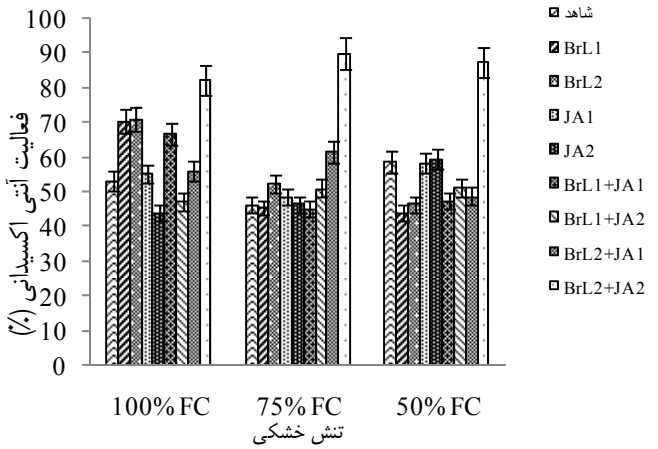
جدول ۱- تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های شیمیایی میوه انار رقم رباب در شرایط تنش خشکی و کاربرد تنظیم کننده‌های رشد ۲۴- اپی براسینولید و جاسمونیک اسید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		مواد جامد محلول (TSS)	اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)	pH	شاخص رسیدگی میوه (TSS/TA)
بلوک	۳	۲۵/۴۱**	۱/۰۷ns	۰/۰۵ns	۰/۱۸ns
تنش خشکی	۲	۲۳/۹۳**	۱۹/۴۱**	۰/۳۲*	۱۰/۹۲**
تنظیم کننده رشد	۸	۵/۳۸ns	۱/۷۶ns	۰/۰۹ns	۰/۴۹ns
تنظیم کننده رشد*تنش خشکی	۱۶	۲/۴۱ns	۰/۴۷ns	۰/۰۶ns	۰/۵۲ns
خطای آزمایش	۷۸	۳/۷	۱/۱۳	۰/۰۹	۰/۵۵
CV		۱۲/۶۶	۲۵/۸۳	۹/۰۱	۲۰/۱۰

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار

تاثیر تیمار تنش متوسط خشکی بر افزایش فنل کل آب میوه، قابل توجه بود و اختلاف معنی‌داری را با سایر سطوح تنش خشکی نشان داد. بین سطوح مختلف تنش خشکی در میزان فنل کل پوست میوه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). افزایش فنل کل آب میوه ناشی از اعمال تنش متوسط خشکی، موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن شد (۳۴/۴۵٪). اگرچه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی پوست میوه به مراتب بیشتر از آب میوه بود (۵۸/۶۴ درصد در تیمار رطوبتی شاهد)، با این وجود بین سطوح مختلف تنش خشکی به دلیل تغییرات ناچیز در فنل کل، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول‌های ۳ و ۴). تاثیر سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر میزان آنتوسیانین آب میوه معنی‌دار نبود (جدول ۲). فنل کل آب میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه، میزان فنل کل پوست میوه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه تحت تاثیر سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد قرار گرفت و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد را در تغییر میزان فنل کل آب میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه، میزان فنل کل پوست میوه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه در جدول ۵ نشان داده شده است. بالاترین مقدار در هر یک از متغیرهای ذکر شده مربوط به ترکیب هورمونی ۲۴- اپی براسینولید همراه با جاسمونیک اسید در مقادیر۰/۲ و ۲ میلیگرم بر لیتر بود (جدول ۵). نتایج به‌دست آمده همچنین نشان داد که سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد مستقل از سطوح مختلف تیمار رطوبتی عمل نموده‌اند، اگرچه در هر سه سطح تیمار رطوبتی، ترکیب هورمونی ۲۴- اپی براسینولید همراه با جاسمونیک اسید در مقادیر۰/۲ و ۲ میلیگرم بر لیتر بالاترین مقدار را بویژه در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه به خود اختصاص و با سایرین اختلاف معنی‌داری را نشان داد. با این وجود سایر سطوح هورمونی در سطوح مختلف تنش خشکی دارای رفتاری متفاوت بودند (شکل ۱).



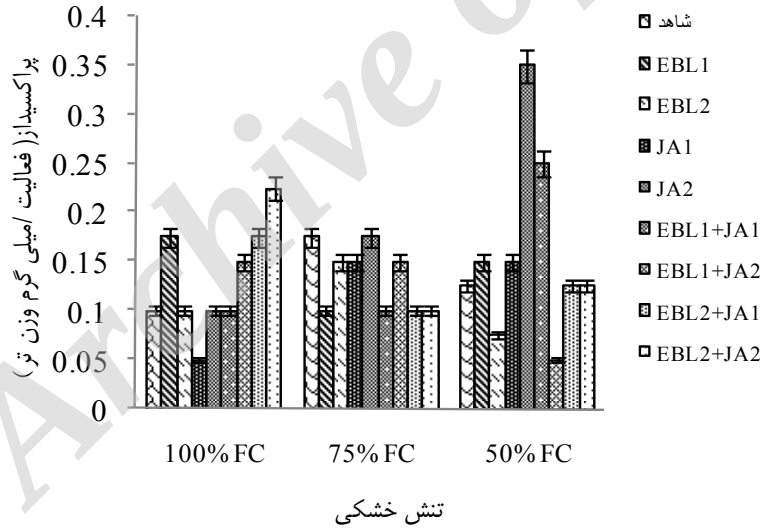
شکل ۱- تغییرات میزان فعالیت آنتی اکسیدانی پوست میوه ناشی از اثر متقابل تنش خشکی و تنظیم کننده‌های رشد

Archive of SID

www.SID.ir

با بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز موجود در آب میوه، مشخص شد با افزایش میزان تنش خشکی، فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد، به‌گونه‌ای که تیمار تنش متوسط خشکی باعث بیشترین فعالیت آن شد و اختلاف معنی‌داری را با دیگر سطوح تیمار رطوبتی نشان داد (جدول‌های ۲ و ۴). اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تیمار رطوبتی در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده نشد. با این وجود کمترین میزان فعالیت آنزیم مذکور مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۴).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تاثیر تنظیم کننده‌های رشد قرار نگرفت و بین سطوح مختلف، اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ناشی از به کارگیری سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد در سطوح مختلف تنش خشکی افزایش و اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). در شرایط بدون تنش رطوبتی، ترکیب هورمونی ۲۴- اپی‌براسینولید همراه با جاسمونیک اسید در مقادیر۰/۲ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز را به خود اختصاص داد که با سطوح دیگر تنظیم کننده‌های رشد، اختلاف معنی‌داری داشت. در تیمارهای تنش ملایم و تنش شدید خشکی، بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر مصرف ۲ میلیگرم بر لیتر از جاسمونیک اسید مشاهده شد، هرچند در تیمار تنش ملایم، اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح نشان نداد. تاثیر جاسمونیک اسید در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شدید خشکی در قابل توجه است (شکل ۲).



شکل ۲- تغییرات میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز آب میوه ناشی از اثر متقابل تنش خشکی و تنظیم کننده‌های رشد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی میوه انار رقم رباب در شرایط تنش خشکی و کاربرد تنظیم کننده‌های رشد ۲۴- اپی‌براسینولید و جاسمونیک اسید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		آنتوسیانین آب میوه	فنل کل آب میوه	فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه	فنل کل پوست میوه	فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه	فعالیت آنزیم پراکسیداز آب میوه	فعالیت آنزیم کاتالاز آب میوه
بلوک	۳	۰/۶۷۰ns	۱۲۳۲۴۱/۹۷ ns	۱۴/۰۷ ns	۶۲۷۴/۳۷ns	۶۹۹/۶۵*	۶۵/۳۱ ns	۰/۰۰۱ ns
تنش خشکی	۲	۰/۰۸۸ns	۷۹۰۲۶۴۰/۹۱**	۵۱۲/۰۴**	۹۰۴/۲۱ns	۴۱۶/۰۲ns	۲/۵۰ ns	۰/۰۰۹ **
هورمون	۸	۰/۶۳۴ns	۲۱۰۵۴۱۲/۰۸**	۲۷۶/۰۸**	۴۰۱۱۹/۴۱**	۱۵۴۹/۰۲**	۷۶/۶۷ ns	ns ۰/۰۰۰۵
هورمون×تنش خشکی	۱۶	۰/۶۲۶ns	۲۱۷۹۱۲/۳۸ns	۳۹/۸۱ns	۴۲۲۲/۹۱ns	۳۰۵/۷۸*	۲۶۹/۴۶**	۰/۰۰۱ns
خطای آزمایش	۷۸	۰/۴۰۳	۲۴۷۲۰۹/۹۱	۲۵/۹۱	۷۱۳۹/۳۷	۱۷۷/۴۵	۳۳/۸۴	۰/۰۰۰۹
CV		۲۶/۴۶	۲۳/۲۳	۱۶/۸۵	۲۴/۰۸	۲۳/۴۵	۲۱/۶۱	۲۲/۰۸

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ ns نبود اختلاف معنی‌دار

جدول۳- مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای رطوبتی بر مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH و شاخص رسیدگی میوه

تیمار رطوبتی	متغیرها			
	مواد جامد محلول (درجه بریکس)	اسیدیته قابل تیتراسیون (٪)	pH	شاخص رسیدگی میوه
شاهد (FC ٪۱۰۰)	۱۴/۳۲b	۳/۷۵b	۳/۵۱a	۳/۸۱a
تنش ملایم (FC ٪۷۵)	۱۵/۳۰a	۳/۹۵b	۳/۵۰a	۳/۸۷a
تنش متوسط (FC ٪۵۰)	۱۵/۹۰a	۵/۶۱a	۳/۳۶b	۲/۸۳b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول۴- مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای رطوبتی بر فنل کل آب میوه، فعالیت آنتی اکسیدانی آب میوه، فنل کل پوست میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز آب میوه انار رقم رباب

تیمار رطوبتی	متغیرها					
	فنل کل آب میوه (میلی‌گرم بر لیتر)	فعالیت آنتی اکسیدانی آب میوه (٪)	فنل کل پوست میوه (گرم بر کیلوگرم)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه (٪)	فعالیت آنزیم پراکسیداز آب میوه (گرم بر میلی‌لیتر)	فعالیت آنزیم کاتالاز آب میوه (در دقیقه)
شاهد (FC ٪۱۰۰)	۱۸۵۲/۱۰b	۲۷/۲۵b	۱۶۱/۹۹a	۵۸/۶۴a	۰/۰۱۲۲a	۰/۱۲۳b
تنش ملایم (FC ٪۷۵)	۱۸۸۶/۲۱b	۲۸/۹۱b	۱۵۰/۶۸a	۵۲/۹۲a	۰/۰۱۳۶a	۰/۱۳۵b
تنش متوسط (FC ٪۵۰)	۲۶۸۰/۱۰a	۳۴/۴۵a	۱۷۰/۹۵a	۵۵/۱۹a	۰/۰۱۲۴a	۰/۱۵۵a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- مقایسه میانگین سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد ۲۴- اپی براسینولید و جاسمونیک اسید بر فنل کل آب میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه، فنل کل پوست میوه و فعالیت آنتی اکسیدانی پوست میوه

تیمار هورمونی	میانگین مربعات			
	فنل کل آب میوه (میلی گرم بر لیتر)	فعالیت آنتی اکسیدانی آب میوه (٪)	فنل پوست میوه (گرم بر کیلوگرم)	فعالیت آنتی اکسیدانی پوست میوه (٪)
شاهد (آب)	۱۸۱۴/۲۰c	۲۴/۷۸c	۱۶۵/۸۵bc	۵۲/۷۲b
BrL (۰/۱ میلی گرم بر لیتر)	۱۸۲۵/۵۱c	۲۴/۴۹bc	۱۷۲/۷۸bc	۵۳/۲۱b
BrL (۰/۲ میلی گرم بر لیتر)	۲۶۱۰/۰۰b	۳۰/۶۱b	۱۸۳/۱۹bc	۵۶/۶۶b
JA (۱ میلی گرم بر لیتر)	۱۹۶۴/۵۰bc	۲۹/۱۸bc	۱۵۴/۶۴c	۵۳/۵۹b
JA (۲ میلی گرم بر لیتر)	۲۳۶۷/۶۱b	۲۹/۳۱bc	۱۴۵/۱۵c	۴۹/۹۸b
JA+BrL (۰/۱ + ۱ میلی گرم بر لیتر)	۲۰۵۵/۳۰bc	۳۰/۹۱b	۱۸۶/۸۷bc	۵۳/۰۲b
JA+BrL (۰/۱ + ۲ میلی گرم بر لیتر)	۲۳۵۱/۳۱b	۲۹/۸۷b	۲۳۵/۶۹b	۴۹/۷۴b
JA+BrL (۰/۲ + ۱ میلی گرم بر لیتر)	۱۸۶۰/۴۱c	۲۷/۷۲bc	۱۵۲/۴۹c	۵۵/۳۵b
JA+BrL (۰/۲ + ۲ میلی گرم بر لیتر)	۳۱۵۲/۶۲a	۴۱/۹۷a	۳۲۸/۱۳a	۸۶/۵۰a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

بحث و نتیجه گیری

از سیستم‌های دفاعی بسیار کارامد در گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، تولید ترکیب‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی است. یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی که منجر به تولید طیف گسترده‌ای از رادیکال‌های آزاد در گیاهان و در نهایت تنش اکسیداتیو می‌شود، تنش خشکی است. استفاده از گیاهانی که از سازگاری بالایی به شرایط خشکی خاک برخوردار هستند و عملکرد کمی و کیفی آنها کمتر دستخوش تغییر می‌شود، در اولویت توسعه زراعت و باغبانی در مناطق خشک هستند. در کنار استفاده از گیاهان مقاوم و سازگار، استفاده از روش های مناسب و کارامد از جمله اعمال تنش خشکی کنترل شده با هدف بهبود کیفیت و میوه صرفه‌جویی در مصرف آب و یا به کارگیری تنظیم کننده های رشد گیاهی در افزایش کارایی گیاهان در مقابله با تنش خشکی دارای اهمیت است.

در این تحقیق ضمن بررسی تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر کیفیت میوه انار رقم رباب، با استفاده از دو تنظیم‌کننده رشد شامل ۲۴- اپی براسینولید و جاسمونیک اسید، تغییر ترکیب‌های موثر در بهبود کیفیت میوه در شرایط تنش خشکی نیز مورد بررسی قرار گرفت. انار از گونه‌های سازگار به خشکی معرفی و گزارش شده است که مهم‌ترین عامل مقاومت به خشکی، بهبود شرایط اسمولیتی سلول‌ها از طریق انباشت ترکیب‌های مناسب و یا به عبارتی تطابق اسمزی است [۳۲].

تنش خشکی اگرچه ممکن است موجب کاهش اندازه میوه انار و در آخر کاهش عملکرد شود، با این وجود عواملی که باعث بهبود کیفیت میوه می‌شوند از قبیل مواد جامد محلول، میزان آنتوسیانین موجود در آب و پوست میوه افزایش پیدا می‌کنند [۲۸]. نتایج بدست آمده از این پژوهش نیز نشان داد که اعمال تنش خشکی موجب افزایش میزان مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون و کاهش pH آب میوه شد. به دلیل افزایش زیاد اسیدیته قابل تیتراسیون در تیمار تنش متوسط خشکی، شاخص رسیدگی میوه در این تیمار کاهش یافت. به عبارتی، با افزایش شدت تنش خشکی به دلیل پایین بودن pH آب میوه، ممکن است کیفیت میوه برای برداشت نامناسب و یا با تاخیر مواجه شود. شاخص رسیدگی میوه در تنش ملایم خشکی وضعیت مطلوبی را نشان داد. در مجموع می توان بیان داشت که با اعمال تنش ملایم خشکی، شاخص‌های شیمیایی میوه بهبود یافتند که می‌تواند عاملی برای بهبود کیفیت میوه در زمان برداشت و افزایش طول دوره پس از برداشت و یا انبارداری باشد. مطالعه اثر تنش خشکی بر روی انار، نشان داد که میزان مواد جامد محلول در شرایط تنش ملایم خشکی افزایش می‌یابد [۲۴]. در تحقیق

Archive of SID

www.SID.ir

مذکور تغییر قابل توجهی در میزان اسیدیته قابل تیتراسیون و pH در سطوح مختلف تنش خشکی با شاهد مشاهده نشد. بهبود کیفیت میوه انار رقم مولار د الچه[1] از طریق کم آبیاری کنترل شده (کاهش ۲۵ درصدی از تبخیر و تعرق پتانسیل) شامل افزایش آنتوسیانین آب میوه، افزایش مواد جامد محلول و بهبود رنگ میوه گزارش شده است [۲۸]. اثرات کم آبیاری به شدت تنش و دوره رشد میوه بستگی دارد و در صورت اعمال به موقع تنش خشکی ملایم، اثر آن بهبود کیفیت میوه در زمان برداشت و طولانی شدن دوره انبارداری خواهد بود [۲۸]. با اعمال سطوح مختلف تنش خشکی روی انار رقم مولار د الچه گزارش شد که تنش خشکی تاثیری بر مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون و شاخص رسیدگی میوه ندارد، با این وجود pH آب میوه تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفته و کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت [۲۳].

در این تحقیق، تنش خشکی بر میزان آنتوسیانین آب میوه تاثیر معنی‌داری نداشت. میزان آنتوسیانین اندازه‌گیری شده در تمامی تیمارها از آن‌چه زارعی و همکاران در رابطه با انار رقم رباب گزارش کرده‌اند [۴۴] مقدار پایین‌تری را نشان داد. با اعمال تنش ملایم خشکی در انار، دریافتند که میزان آنتوسیانین در مقایسه با شاهد افزایش یافت [۲۴]. افزایش قابل توجه‌ای در اثر اعمال تنش ملایم خشکی در میزان آنتوسیانین آب میوه در تحقیق یاد شده، مشاهده نشد. آن‌ها بیان داشتند که تنش شدید خشکی موجب کاهش میزان آنتوسیانین در آب میوه انار رقم مولار دالچه شده است [۲۳]. یکی از دلایل پایین بودن میزان آنتوسیانین میوه‌های مورد آزمایش در تمامی سطوح تیمارهای رطوبتی، تاخیر در زمان برداشت میوه‌ها بود، اگرچه برداشت میوه‌ها، همزمان با برداشت میوه‌های سایر ارقام کشت شده در مجموعه ذخائر توارثی انار یزد صورت گرفت. تفاوت در میزان داده‌های بدست آمده، می‌تواند ناشی از نوع رقم و روش استخراج ترکیب موثره نیز باشد [۴۴].

میزان فنل اندازه‌گیری شده در آب میوه و همچنین پوست میوه، مقادیر بالایی را نشان داد. تنش خشکی موجب افزایش میزان فنل موجود در آب میوه و همچنین پوست میوه شد، هر چند اختلاف معنی‌داری در میزان فنل موجود در پوست میوه، بین سطوح مختلف تنش خشکی مشاهده نشد. با افزایش سطح تنش خشکی، میزان فنل موجود در آب میوه افزایش قابل توجه‌ای یافت. به نظر می‌رسد، مهم‌ترین واکنش انار رقم رباب به تنش خشکی، افزایش میزان فنل در اجزای مختلف گیاه و از جمله میوه و به ویژه آب میوه باشد. میزان فنل موجود در آب میوه انار رقم رباب را در محل آزمایش ۷۸۶/۲ میلیگرم بر ۱۰۰ گرم آب میوه گزارش شده است که در بین ارقام مورد بررسی، بالاترین مقدار را نشان می‌دهد [۴۴]. میزان فنل اندازه‌گیری شده در آب میوه تیمار رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی، ۱۸۵۲/۱ میلیگرم بر لیتر بود که نسبت به آن‌چه زارعی و همکاران [۴۴] گزارش کرده‌اند مقدار کمتری را نشان داد. مقدار فنل موجود در آب میوه تیمار تنش متوسط خشکی ۲۶۸۰/۱ میلیگرم بر لیتر اندازه‌گیری شد که افزایش ۷۰ درصدی را نشان داد. ترکیب‌های فنلی در گیاهان و سازگاری آن‌ها به تنش‌های محیطی و از جمله تنش خشکی به دلیل بالا بودن میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا- لیاز ۲(PAL) است [۱۴]. بررسی تاثیر مقادیر مختلف آب بر روی کمیت و کیفیت میوه انگور، نشان داد که در این گیاه، تنش خشکی نیز موجب افزایش مقادیر آنتوسیانین و فنل میوه و به دنبال آن بهبود کیفیت میوه می‌شود، هرچند ممکن است کاهش عملکرد را به دنبال داشته باشد [۳۴].

در تمامی سطوح تنش خشکی، مقادیر فعالیت آنتی اکسیدانی اندازه‌گیری شده با آنچه در برخی گزارش‌ها به آن اشاره شده، پایین‌تر بود. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برای آب میوه انار رقم رباب را به ترتیب ۵۱/۴۶ و ۷۰/۲۵ درصد گزارش شده است [۴۰ و ۴۴]. با این وجود تاثیر تنش خشکی را در این ارتباط را نباید نادیده گرفت. تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه شد. پایین بودن میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آب میوه در این پژوهش ممکن است به دلیل پایین بودن مقدار آنتوسیانین موجود در آب میوه باشد، هرچند گزارش شده است که میزان آنتوسیانین موجود در آب انار، ارتباطی با فعالیت آنتی اکسیدانی آن ندارد [۴۰]. آنتوسیانین و

[1]. Mollar de Elche

[2]. Phenylalanine ammonia-lyase

Archive of SID

www.SID.ir

ترکیب‌های فنلی مشابه، هیچیک در میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی آب میوه انار نقشی ندارند [۲۴]. علی رغم عدم وجود اختلاف معنی‌دار در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی پوست میوه در اثر اعمال تنش خشکی، مقادیر اندازه‌گیری شده، مربوط به پوست میوه بیش از دو برابر آب میوه بود (به ترتیب برای آب و پوست میوه، ۲۷/۲۵ و ۵۸/۶۴٪). گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه انار در تمامی ارقام مورد بررسی و از جمله رقم رباب، بیش از آب میوه است [۲]. نتایج بررسی‌های به عمل آمده نشان داد که با افزایش میزان فنل در پوست میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت، در حالی‌که افزایش میزان فنل در آب میوه تاثیر کمتری بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن داشت. بیشتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه نسبت به آب میوه را می‌توان به مقدار زیاد فنل کل در پوست میوه دانست. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه انار مربوط به فنل کل بوده در حالی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه به طور عمده مربوط به تانن‌های قابل هیدرولیز به همراه الاجیک اسید، پنی کالاجین و آنتوسیانین است [۲]. هر عاملی که موجب افزایش میزان فنل کل در پوست میوه گردد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌را افزایش می‌دهد، در حالی که ساخت ترکیب‌هایی چون تانن‌های قابل هیدرولیز، الاجیک اسید، پنی کالاجین، آنتوسیانین و غیره. عامل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه در انار هستند. به نظر می‌رسد تنش خشکی موجب تولید ترکیب‌های فنلی غیر کارآمد در آب میوه شده و از این طریق از تولید ترکیب‌های موثر در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه جلوگیری کرده باشد. آنتوسیانین‌ها عضوی از ترکیب‌های فنلی بوده و گزارش شده است که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان فنل کل با آنتوسیانین در میوه انار وجود دارد [۴۴]. افزایش ۸۲۸ میلیگرم بر لیتر فنل کل در آب میوه منجر به افزایش اندک (۷/۲٪) در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن شد. اثر کاهش میزان الاجیک اسید و پنی‌کالاجین در آب میوه انار در اثر اعمال تنش خشکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن کاهش پیدا می‌کند. تنش خشکی شدید تاثیر بیشتری بر این کاهش دارد [۲۳].

بررسی‌های به عمل آمده نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز موجود در آب میوه، افزایش یافت. تنش شدید خشکی بالاترین مقدار فعالیت این آنزیم را نشان داد. تغییر محسوسی در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز آب میوه در اثر اعمال تنش خشکی مشاهده نشد. از سازوکارهای مهم گیاهان در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو، بهبود فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز، پرواکسیداز، آسکوربات پرواکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز است [۶]. هرچند برخی گزارش‌ها به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر افزایش تنش خشکی اشاره دارند [۷]. به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در آب میوه، یکی از راه کارهای مقابله با تنش خشکی از طریق بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی در درختان انار است.

اگرچه در این پژوهش استفاده از تنظیم کننده‌های رشد، تاثیری بر عملکرد ویژگی‌های شیمیایی میوه نداشت، با این وجود گزارش‌هایی مبنی بر بهبود کیفیت میوه در اثر محلول‌پاشی با براسینواستروئیدها و متیل جاسمونات روی برگ‌های گیاهانی چون فلفل و گوجه فرنگی [۱۹ و ۲۱] و پس از برداشت روی میوه‌هایی چون انار، سیب و تمشک [۲۵، ۴۳ و ۳۳] گزارش شده است. بررسی تاثیر جاسمونیک اسید روی میوه‌های انار رقم ملس یزدی و ملس اشکذر قبل از انبارداری، نشان داد که غلظت ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌مولار از این هورمون توانسته است موجب بهبود مواد جامد محلول گردد، هرچند تاثیری بر افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون و میزان فنل کل در طول دوره انبارداری نداشته است [۲۶]. با استفاده از سالسیلیک اسید، تغییر در میزان اسیدیته و مواد جامد محلول در انار گزارش شده است [۳۶]. به نظر می‌رسد زمان استفاده از تنظیم کننده‌های مورد اشاره برای بهبود ویژگی‌های شیمیایی میوه، نامناسب بوده است.

اگرچه تاثیر استفاده از تنظیم کننده‌های رشد ۲۴- اپی براسینولید و جاسمونیک اسید بر تجمع آنتوسیانین در برگ، میوه و ریشه گیاهان مختلف گزارش شده است [۲۰،۱۵، ۲۳، ۳۱ و ۳۵]، با این وجود در این پژوهش تاثیری از کاربرد تنظیم کننده‌های رشد ذکر شده بر میزان آنتوسیانین آب میوه انار رقم رباب مشاهده نشد. استفاده از

Archive of SID

www.SID.ir

متیل جاسمونات، قبل از برداشت میوه دو گونه از تمشک، موجب بهبود کیفیت میوه از طریق افزایش آنتوسیانین، فنل کل و در نتیجه بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها شده است [۴۳]. متیل جاسمونات می‌تواند از طریق تحریک ساخت اتیلن و فعال کردن آنزیم‌های موثر بر ساخت ترکیب‌های فنلی و همچنین افزایش میزان قندهای محلول، تجمع آنتوسیانین و سایر ترکیب‌های فنلی که در بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه نقش دارند را به دنبال داشته باشد. یکی از دلایل کاهش میزان آنتوسیانین آب میوه را در انار آفتاب سوختگی اعلام و گزارش شده است که با کاربرد جیبرلیک اسید، امکان کاهش آفتاب سوختگی و بهبود میزان آنتوسیانین میوه وجود دارد [۱۱].

افزایش ترکیب‌های فنلی ناشی از کاربرد تنظیم کننده‌های رشد ۲۴- اپی براسینولید و جاسمونیک اسید بویژه در شرایطی که از غلظت بالای آن‌ها در ترکیب با یکدیگر استفاده شد، بیانگر نقش آن‌ها در افزایش تولید ترکیب‌های آنتی اکسیدانی و به‌ویژه ترکیب‌های فنلی است. در بسیاری از منابع بر تاثیر کاربرد بیرونی براسینواستروئیدها و متیل جاسمونات‌ها بر افزایش تولید ترکیب‌های آنتی اکسیدانی و بهبود شرایط گیاه در مقابله با تنش‌های محیطی، تاکید شده است [۴، ۲۶، ۴۳ و ۴۲]. به نظر می‌رسد بهبود تولید ترکیب‌های فنلی از طریق افزایش فعالیت اتیلن، افزایش میزان قندها و همچنین سایر ترکیب‌های آنزیمی و غیر آنزیمی از جمله فنیل‌آلانین آمونیا لیاز که موثر بر تولید ترکیب‌های فنلی هستند، اتفاق افتاده است [۳۹].

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز آب میوه تحت تاثیر تنظیم کننده‌های رشد قرار نگرفت. با این وجود فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایطی که دسترسی گیاه به آب تغییر نمود، با به کارگیری تنظیم کننده‌های رشد، بهبود یافت. به عبارتی، فعالیت آنزیم پراکسیداز هنگامی که درختان تحت تاثیر تنظیم کننده‌های رشد قرار گرفتند رفتارهای متفاوتی را در برابر سطوح مختلف تنش خشکی از خود نشان دادند. در زمانی که درختان تحت تاثیر تنش خشکی قرار نگرفتند، ترکیب هورمونی ۲۴- اپی‌براسینولید همراه با جاسمونیک اسید در مقادیر۰/۲ و ۲ میلیگرم بر لیتر و هنگامی که تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند، غلظت ۲ میلیگرم بر لیتر از جاسمونیک اسید بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را به همراه داشت. تاثیر جاسمونیک اسید بر افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش و بدون تنش، اولویت کاربرد این تنظیم کننده رشد را در بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی انار نشان داد. پایین بودن میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش خشکی با کاربرد ۲۴- اپی‌براسینولید، می‌تواند به دلیل حذف عوامل تنش در اثر استفاده از این تنظیم‌کننده رشد به عنوان یک براسینواستروئید باشد [۴۱]. به عبارت دیگر، ترکیب‌هایی که ناشی از تنش‌زا اسمزی تولید و گیاه را وادر به تولید ترکیب‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی می‌کند، بوسیله براسینواستروئیدها کنترل می‌شوند. افزایش فعالیت آنزیم پروکسیداز را در ریشه نهال‌های نخل در شرایط وجود تنش از طریق آلودگی به قارچ فوزاریوم به‌وسیله استفاده از جاسمونیک اسید گزارش شده است [۱۷]. کاربرد براسینواستروئیدها در گیاه سورگوم، موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و اسکوربیک اکسیداز در شرایط تنش اسمزی شد [۴۱]. به نظر می‌رسد گیاهان مختلف رفتارهای متفاوتی را در مواجه با تنظیم کننده‌های رشد در خصوص فعال نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند.

تاثیر جاسمونیک اسید بر افزایش ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی بیشتر از ۲۴- اپی‌براسینوالید بود. ترکیب جاسمونیک اسید با ۲۴- اپی براسینولید نیز موجب بهبود کارآیی آن شد. افزایش تاثیر کاربرد جاسمونیک اسید به همراه تنظیم کننده‌های رشد دیگر در افزایش میزان آنتوسیانین ریشه گیاه کالانچو (Kalanchoe blossfeldiana) بررسی شده است [۱۴]. هرچند کاربرد توام جاسمونیک اسید و ۲۴- اپی براسینولید تاثیر معنی‌داری در میزان آنتوسیانین ریشه گیاه ذکر شده نداشته است. همان‌گونه که اشاره شد، جاسمونیک اسید از طریق تحریک تولید اتیلن، قندها و برخی آنزیم‌های موثر بر تولید ترکیب‌های فنلی در شرایط تنش خشکی موجب بهبود مقاومت گیاه به تنش می‌شود، در حالی‌که ۲۴- اپی براسینولید از طریق جلوگیری از

Archive of SID

www.SID.ir

تولید ترکیب‌های تنش‌زا موجب بهبـود مقاومـت گیـاه بـه تنش‌های محیطی می‌شود.

References

[1]. Ai, L., Li, Z.H., Xie, Z.X., Tian, X.L., Eneji, A.E., & Duan, L.S. (2008). Coronatine alleviates polyethylene glycol-induced water stress in two rice (Oryza sativa L.) cultivars. *Journal Agronomy Crop Science,* 194, 360-368.

[2]. Akbarpour, V., Hemmati, K., Sharifani, M., & Bashiri Sadr, Z. (2010). Multivariate analysis of physical and chemical characteristics in some pomegranate (Punica granatum) cultivars of Iran. *Journal of Food, Agriculture and Environment,* 8(1), 244-248.

[3].Anuradha, S., & Rao, S.S.R. (2007). The effect of brassinosteroids on radish (Raphanus sativus L.) seedlings growing under cadmium stress. *Plant and Soil Environment,* 53(11), 465-472.

[4]. Bajguz, A., & Hayat, S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and. Biochemistry,* 47, 1-8.

[5]. Bandurska, H., Stroinski, A., & Kubis, J. (2003). The effect of jasmonic acid on the accumulation of ABA, proline and spermidine and its influence on membrane injury under water deficit in two barley genotypes. *Acta Physiology Plant,* 25, 279-285.

[6]. Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany,* 91, 149-179.

[7]. Cevik, S., & Unyayar, S. (2015). The effects of exogenous application of ascorbate and glutathione on antioxidant system in cultivated Cicer arietinum and wild type C. reticulatum under drought stress. *Journal of Natural and Applied Science,* 19(1), 91-97.

[8]. Chanes, B., & Mahely, A.C. (1996). Assay of catalase and peroxidase. In Colowick, S.P. and N.D. Kaplan (eds.), Methods in enzymology. Academic Press. New York, 2, 764-791.

[9]. Dhaubhadel, S., Browning, K.S., Gallie, D.R., & Krishna, P. (2002). Brassinosteroid functions to protect the translational machinery and heat-shock protein synthesis following thermal stress. *The Plant Journal,* 29(6), 681-691.

[10]. Ebermann, R., & Stich, K. (1982). Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. *Phytochemistry,* 21, 2401-2402.

[11]. Ehteshami, S., Khani-Sari, H., & ershadi, A. (2012). Effect of Kaolin and Gibberellic Acid Application on Some Qualitative Characteristics and Reducing the Sunburn in Pomegranate Fruits (Punica granatum) cv. 'Rabab Neiriz. *Plant production Technology,* 11(1), 15-23.

[12]. Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling & Behavior,* 5 (1), 26-33.

[13]. Giusti, M.M., & Wrolstad, R.E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their application in food systems. *Biochemical Engineering Journal,* 14, 217-225.

[14]. Goraj, J., Wegrzynowicz-lesiak, E., & Saniewski, M. (2014). The effects of some plant growth regulator and their combination with methiyl jasmonate on anthocyanin formation in roots of Kalanchoe blossfeldiana. *Journal of Horticultural Research,* 22(2), 31-40.

[15]. Hura, T., Grzesiak, S., Hura, K., Thiemt, E., Tokarz, K., & Wedzony, M. (2007). Physiological and biochemical tools useful in drought-tolerance detection in genotypes of winter triticale: accumulation of ferulic acid correlates with drought tolerance. *Annual Botanic,* 100, 767-775.

[16]. Ibn Maaouia-Houimli, S., Ben Mansour-Gueddes, S., Dridi-Mouhandes, B., & Denden, M. (2012). 24-epibrassinolide enhances flower and fruit production of pepper (Capsicum annuum L.) under salt stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry,* 8 (3), 224-233.

[17].Jaiti, F., Verdeil, J.L., ElHadrami, I. (200 9). Effect of jasmonic acid on the induction of polyphenoloxidase and peroxidase activities in relation to date palm resistance against Fusarium oxysporum f. sp. albedinis.

Archive of SID

www.SID.ir

Physiological and Molecular Plant Pathology, 24, 84–90.
[18]. Karami, A., Shahbazi, M., Niknam, V., Shobbar, Z., Tafreshi, R., Abedini, R., & Mabood, H. (2013). Expression analysis of dehydrin multigene family across tolerant and susceptible barley (Hordeum vulgare L.) genotypes in response to terminal drought stress. *Acta Physiology Plant,* 35(7), 2289-2297.
[19]. Kazemi, M. (2014). Effect of Foliar Application with Salicylic Acid and Methyl Jasmonate on Growth, Flowering, Yield and Fruit Quality of Tomato. Bulletin of Environment. *Pharmacology and Life Sciences,* 3(2), 154-158.
[20]. Luan, L.Y., Zhang, Z.W., Xi, Z.M., Huo, S.S., & Ma, L.M. (2013). Brassinosteroids regulate anthocyanin biosynthesis in the ripening of grape berries. *South African Journal Enology and Viticulture,* 34(2), 196-203.
[21]. Luhova, L., Lebeda, A., Hederorva, D., & Pec, P. (2003). Activities of oxidase, peroxidase and catalase in seedlings of Pisum sativum L. under different light conditions. Plant Soil Environment, 49(4), 151-157.
[22]. Mac-Adam, J.W., Nelson, C.J., & Sharp, R.E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology,* 99, 872-878.
[23].Mena, P., Galindo, A., Collado-Gonzalez, J., Ondono, S., Garcia-Viguera, C., Ferreres, F., Torrecillas, A., and Gil-Izquierdo, A. (2013). Sustained deficit irrigation affects the colour and phytochemical characteristics of pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 93(8), 1922-1927.
[24]. Mellishoa, C.D., Egeaa, I., Galindoa, A., Rodriguez, P., Rodriguez, J., Conejeroa, W., & Romojaroa, F. (2012). Pomegranate (Punica granatum L.) fruit response to different deficit irrigation conditions. *Agricultural Water Management,* 114, 30–36.
[25]. Mirdehghan, S.H., & Ghotbi, F. (2014). Effects of Salicylic Acid, Jasmonic Acid, and Calcium Chloride on Reducing Chilling Injury of Pomegranate (Punica granatum L.) Fruit. *Journal of Agricultural Science & Technology,* 16 (1), 163-173.
[26]. Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science,* 11, 15–19.
[27]. Nunez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L.M., Siqueira, W.J., & Zullo, M.A.T. (2003). Influence of a brassinsteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Biology Plant,* 47, 67–70.
[28]. Larabi, A.L., Palou, L., Intrigliolo, D.S., Nortes, P.S., Rojas-Argudo, C., Taberner, V., Bartual, J., & Perez-Gago, M.B. (2013). Effect of sustained and regulated deficit irrigation on fruit quality of pomegranate cv. Mollar de Elche at harvest and during cold storage. *Agricultural Water Management,* 125, 61–70.
[29]. Passioura, J. (2007). The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *Journal of Experimental Botany,* 58, 113–117.
[30]. Qiu, Z.B., Guo, J.L., Zhu,A.J., Zhang, L., & Zhang, M.M. (2014). Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 104, 202-208.
[31]. Rao, S.S.R., Vardhini, B.V.V., Sujatha, E., & Anuradha, S. (2002). Brassinosteroids–A new class of phytohormones. *Current Science,* 82, 1239–1245.
[32]. Rodriguez, P., Mellisho, C.D., Conejero, W., Cruz, Z.N., Ortuno, M.F., Galindo, A., & Torrecillas, A. (2012). Plant water relations of leaves of pomegranate trees under different irrigation conditions. *Environmental,* 77: 19–24.
[33]. Rudell, D.R., Mattheis, J.P., & Fellman, J.K. (2002). Methyl Jasmonate Enhances Anthocyanin Accumulation and Modifies Production of Phenolics and Pigments in 'Fuji' Apples. *Journal of The American Society fot Horticultural Science,* 127, 435–441.
[34]. Santos, T.P.d., Lopes, C.M., Rodrigues, M.L., Souza, C.R.d., Ricardo-da-Silva, J.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S., & Chaves, M.M. (2007). Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Scientia Horticulturae,* 112(3), 321-330.
[35]. Sasaki, Y., Asamizu, E., Shibata, D., Nakamura, Y., Kaneko, T., Awai, K., Amagai, M., Kuwata, C., Tsugane, T., Masuda, T., Shimada, H., Takamiya, K., Ohta, H., &

Archive of SID

www.SID.ir

Tabata, S. (2001). Monitoring of methyl jasmonate-responsive genes in Arabidopsis by cDNA macroarray: self-activation of jasmonic acid biosynthesis and cross-talk with other phytohormone signalling pathways. *DNA Reserch,* 8, 153-161.

[36]. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., & Valero. D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology,* 53: 152–154.

[37]. Shan, C., & Liang, Z. (2010). Jasmonic acid regulates ascorbate and glutathione metabolism in Agropyron cristatum leaves under water stress. *Plant Science,* 178, 130–139.

[38]. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Agricultural and Food Chemistry,* 40, 945-948.

[39]. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American *Journal of Enology and Viticulture,* 16, 144-158.

[40]. Tatari, M., Fotouhi Gaazvini, R., Ghasemnejad, M., Mousavi, S.A., & Tabatabaii, S.Z. (2011). Morphological and biochemical characteristics of fruit in some pomegranate cultivars in climatical conditions of Saveh. *Journal of plant and Seed Breeding in Iran,* 27(1), 69-72, (in farsi).

[41]. Vardhini, B.V., & Rao, S.S.R. (2003). Amelioration of water stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum. *Plant Growth Regulator,* 41, 25–31.

[42]. Wang, S.Y., Bowman, L., & Ding, M. (2008). Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (Rubus sp.) and promotes nonproliferation of human cancer cells. *Food Chemistry,* 107, 1261–1269.

[43]. Wang, S.Y., & Zheng, W. (2005). Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. *International Journal of Food Science and Technology,* 40, 187–195.

[44]. Zarei, M., Azizi, M., & Bashiri-Sadr, Z. (2010). Studies on physic –chemical properties and bioactive compounds of six pomegranate cultivars grown in Iran. *Journal of Food Technology,* 8(3), 112-117.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of growth regulators on pomegranate (*Punica granatume* L. cv. Rabab) fruit quality under drought stress condition

1-M. H. Rad, PhD student of Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Urmia
mohammadhadirad@gmail.com
2- M. R. Asghari, Associate Professor of Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Urmia
3- M. H. Assareh, Professor, Forests and Rangelands Research Institute, Tehran

Received: 05 Oct 2015
Accepted: 09 Apr 2016

Abstract

Water availability, especially in arid regiones, is one of the major constraints for achieving optimum growth yield. In recent years, several numbers of researches has been done with different methods on adapting plants to environmental stresses such as drought stress. In this experiment, two plant growth regulators named 24-epibrassinolide and Jasmonic acid was used to improve drought tolerance of pomegranates (*Punica granatume* L. cv. rabab). Treatments were three levels of irrigation included sufficient water (control), mild stress (75 % of field capacity) and moderate stress (50 % of field capacity) and 9 levels of hormones included control (water), 24-epibrassinolide (0.1 and 0.2 mg/l), jasmonic acid (1 and 2 mg/l) and their combinations. These treatments arranged in factorial experiment in the form of complete randomized block design with four replications. Plant growth regulators sprayed on the leave of fertile trees before flowering and after fruiting rapid growth. Results showed that many chemical and biochemical parameters of fruit affected by drought stress. Application of 24-epibrassinolide and Jasmunic acid growth regulators changed the amount of total phenols in peel and fruit juice. The amount of antioxidant activity in peel and fruit juice was also altered by the above mentioned plant regulators. Results also showed that application of 0.2 mg/lit of 24-epibrassinolide in combination with 2 mg/lit of jasmunic acid could ameliorate antioxidant activity in peel under control and drought stress conditions. Application of 2 mg/lit of Jasmunic acid ameliorated the activity of peroxidise enzyme in fruit juice severe drought stress. According to the results, application of Jasmunic acid, lonely, or in combination with 24-epibrassinolide could have a positive effect on antioxidant activity of pomegranate fruit under the mentioned concentrations.

Keywords: Pomegranate (*Punica granatume* L. cv. Rabab); 24-epibrassinolide; Jasmunic acid; Drought stress; Antioxidant activity.

Archive of SID

www.SID.ir