مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۷ شماره ۲ صفحه‌های ۲۰۹ تا ۲۲۰ (۱۳۹۵)

تغییرهای ریخت‌فیزیولوژیک دو رقم انار 'رباب' و 'شیشه گپ' در شرایط تنش آبی[۱]

Morph-Physiological Changes of Two Cultivars of Pomegranate 'Rabab' and 'Shisheh Gap' under Water Stress Conditions

مرتضی ابتدایی و اختر شکافنده*[۲]

چکیده

آب یکی از عامل‌های محدود کننده مهم برای محصول‌های کشاورزی در منطقه‌های خشک و نیمه خشک جهان است. ایران یکی از بزرگ‌ترین تولید کننده‌ها و صادر کننده‌های انار در دنیا است. در این پژوهش تأثیر تنش خشکی روی برخی از پاسخ‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک نهال‌های یکساله دو رقم انار 'رباب' و 'شیشه گپ' در شرایط گلخانه بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ تکرار و در هر تکرار ۳ گیاه اجرا شد. تیمارها شامل ۴ سطح آبیاری ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه و دو رقم انار بود. نتیجه‌ها نشان داد در هر دو رقم، با افزایش تنش خشکی شاخص‌های رشدی شامل تعداد برگ، طول شاخه، مقدار کلروفیل و محتوای نسبی آب کاهش، اما مقدار پرولین و نشت یونی افزایش یافت. در این راستا، رقم رباب با تجمع بیشتر پرولین، نشت یونی کمتر و حفظ محتوای نسبی آب بیشتر نسبت به 'شیشه گپ' تحمل بیشتری به خشکی نشان داد و رشد بهتری داشت.

واژه‌های کلیدی: انار، پرولین، تنش آبی، محتوای نسبی آب، نشت یونی.

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L.، یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین درخت‌های منطقه‌های نیمه گرمسیری و گرمسیری جهان است. بر طبق نظریه دکاندول و شواهد موجود، انار بومی ایران و کشورهای هم‌جوار آن است که به تدریج به سایر منطقه‌ها راه و گسترش یافته است (۱۸، ۱۹). در سال‌های اخیر مطالعه‌های زیادی خاصیت دارویی میوه انار را تأیید کردند. آب انار و فراورده‌های آن کارایی بالایی در درمان بیماری‌های زیادی مانند سرطان، ایدز، اختلال‌های مغزی و غیره دارد (۸). در حال حاضر ایران یکی از بزرگ‌ترین تولید کننده‌ها و صادرکننده‌های انار در دنیا است (۱). فارس، خراسان، یزد، اصفهان، مرکزی و تهران مهم‌ترین استان‌های تولید کننده انار در کشور هستند (۲). در سال ۱۳۹۳ سطح زیر کشت غیر بارور انار در کشور ۱۳۰۰۴ هکتار، سطح زیر کشت بارور۶۸۶۹۶/۶ هکتار، مقدار تولید کل انار کشور ۹۹۰۰۵۰/۷ تن و عملکرد در هکتار ۱۴۵۰۸/۵۶ کیلوگرم گزارش شده است (۳).

بیش از ۷۶۰ رقم انار اهلی، وحشی و زینتی از منطقه‌های مختلف ایران بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی شناسایی و جمع‌آوری شده است که این رقم‌ها در ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی یزد نگهداری می‌شوند (۱). در این پژوهش از دو رقم رباب و شیشه گپ استفاده شده است. از ویژگی‌های بارز انار 'رباب' پوست کلفت، دانه قرمز و مرغوب با هسته‌های کوچک و آب زیاد، طعم ملس و مقاومت نسبت به کرم گلوگاه، تحمل نسبی به شوری و خشکی است (۷). 'شیشه گپ' با پوستی قرمز و دانه‌هایی به رنگ قرمز جگری و با طعمی خوش و ملس از جمله

۱- تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۹

۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (shekafan@shirazu.ac.ir)

رقم‌های تجارتی و برتر کشور است و شهرت جهانی دارد. از دیگر ویژگی‌های این نوع انار، خاصیت ماندگاری بسیار آن است که می‌توان آن را بدون اینکه فاسد شود به دورترین منطقه‌های جهان حمل کرد (۲).

تنش‌های محیطی عامل محدود کننده مهم در توسعه کشت، رشد گیاه و تولید ماده‌های غذایی در بسیاری از منطقه‌های جهان هستند. به ویژه که امروز مسأله گرم شدن کره زمین، کاهش بارندگی و پراکنش نامنظم آن هم به طور جدی مطرح است. در بین تنش‌های محیطی، خشک‌سالی بیشترین تأثیر را بر کشاورزی در سرتاسر جهان دارد (۲۲). تحمل به تنش آبی در بیشتر گونه‌های گیاهی دیده شده ولی مقدار این تحمل از گونه‌ای به گونه‌ی دیگر متفاوت است (۱۲). این تفاوت در پاسخ به تنش آبی در میان نژادگان‌ها، راه‌کاری مناسب برای مبارزه با تنش خشکی است. حدود ۶۵٪ از مساحت ایران در منطقه خشک و نیمه خشک قرار گرفته و مقدار بارش باران در این منطقه‌ها کمتر از ۱۵۰ میلی‌متر در سال است. میانگین بارش باران در ایران کمتر از یک سوم میانگین بارش در جهان است (۱۶). بر این اساس، هر چند تغییرهای فیزیولوژیک ایجاد شده توسط خشکی در گیاهان به خوبی مطالعه شده، اما هنوز به عنوان یک موضوع پژوهش از اولویت بالایی برخورداراست (۲۳). یکی از شناخته شده-ترین اثرهای کم آبی در گیاهان کاهش در رشد و نمو با توجه به توقف گسترش یاخته است. کاهش از دست دادن آب یک سازوکار دفاعی گیاه است که تا حدی یا به طور کامل توسط بسته شدن روزنه‌ها کنترل و منجر به تغییر در وضعیت آب برگ می‌شود و به طور مستقیم با جذب کربن و سرعت فتوسنتز ارتباط دارد (۱۱). پاسخ سیستم دفاعی گیاه به تنش متفاوت است و بستگی به طول مدت زمان قرار گرفتن گیاه در معرض تنش، شدت تنش، بافت یا اندام و مرحله رشد گیاه دارد (۱۳). درخت‌های میوه برای مقابله با تنش خشکی سازوکارهای گوناگونی مانند کاهش در مقدار رشد و سطح برگ، کاهش از دست دادن آب با تجمع اسمولیت‌ها (۲۵) و کاهش در مقدار فتوسنتز و هدایت روزنه ای دارند که این سازوکارها به گیاه کمک می‌کند تا شرایط تنش را بهتر تحمل کند (۱۷). هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تنش خشکی روی برخی از پاسخ‌های ریخت‌فیزیولوژیک نهال‌های دو رقم انار 'رباب' و 'شیشه گپ' و همچنین مشخص کردن مقدار تحمل این رقم‌ها به تنش خشکی بود.

مواد روش‌ها

برای انجام این پژوهش در سال ۱۳۹۲ نهال‌های یک‌ساله تا حد امکان یک دست و عاری از بیماری دو رقم انار 'رباب' و 'شیشه گپ' از یک نهالستان نمونه در شهرستان نی‌ریز تهیه و به گلخانه بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز منتقل شدند.

ابتدا نهال‌ها با قارچ‌کش بنومیل ۳ در هزار گندزدایی و سپس به گلدان‌های پلاستیکی ۷ لیتری دارای مخلوط خاکی (ماسه بادی: خاک: خاک برگ) به نسبت‌های ۱:۱:۱ بدون زهکش منتقل و در گلخانه شیشه‌ای با متوسط دمای کمینه و بیشینه به ترتیب ۳±۱۶ و ۳±۳۵ درجه سلسیوس و مقدار رطوبت نسبی ۶۴٪ و نور طبیعی نگهداری و مراقبت شدند. پس از گذشت ۴ ماه و استقرار و رشد گیاهان، تنش خشکی در چهار سطح شامل ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (FC) اعمال شد. بدین ترتیب که گلدان‌ها هر روز وزن و به درصد ظرفیت زراعی مورد نظر رسانده شدند. مدت اعمال تنش حدود ۹۰ روز طول کشید. نمونه‌گیری و اندازه‌گیری‌ها حدود دو هفته قبل از خارج نمودن گیاهان از گلدان‌ها شروع و در نیم‌روز در برگ‌های جوان بالغ به طور کامل گسترش یافته انجام شد.

اندازه‌گیری ویژگی‌های ریخت‌شناسی

طول شاخه و ریشه با خط‌کش و وزن تر و خشک برگ و ریشه با استفاده از ترازوی دیجتالی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها پس از وزن نمودن، به مدت ۴۸ ساعت در خشک‌کن با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده و سپس وزن شدند.

وزن برگ در واحد سطح (LMA)[1]

برای اندازه‌گیری این ویژگی با کمک یک پانچ، ۲۰ دیسک به قطر ۱ سانتی‌متر از برگ جدا و به مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. وزن برگ در واحد سطح از فرمول زیر محاسبه شد:

LMA= وزن خشک برگ (گرم) / سطح برگ (سانتی‌مترمربع)

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

دیسک نمونه‌های برگی از تمام تیمارها با ترازوی دقیق وزن شد، سپس در آب مقطر قرار داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از اندازه‌گیری وزن اشباع، برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در خشک‌کن قرار گرفتند و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول زیر RWC محاسبه شد.

$$RWC= (F_w - D_w / S_w - D_w) \times 100$$

که در آن Fw: وزن تر برگ بدون تأخیر بعد از نمونه‌برداری، D_W: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در خشک‌کن و S_W: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر است.

نشت یونی (شاخص پایداری غشای یاخته‌ای)

برای تعیین شاخص نشت یونی، از هر گلدان، ۰/۲ گرم برگ وزن، خرد و داخل دو سری لوله‌های آزمایش دارای ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار داده شد. یک سری از نمونه‌ها در دستگاه بن‌ماری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و سپس هدایت الکتریکی آنها به کمک دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (C_1). سری دوم از نمونه‌ها نیز به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی آن‌ها اندازه‌گیری شد (C_2). برای تعیین درصد نشت یونی از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{Ion leakage } (\%) = (C_1/C_2) \times 100$$

پرولین

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین از روش بیتس و همکاران (۱۰) و به کارگیری معرف نین هیدرین[2] استفاده و در نهایت غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر، با بهره‌گیری از منحنی استاندارد تعیین شد.

کلروفیل

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (۲۰). یک گرم برگ تازه با مقداری استون ۸۰٪ له و عصاره حاصل درون لوله سانتریفیوژ ریخته شد، پس از سانتریفیوژ، در بالن‌های حجمی ۲۵ میلی‌لیتری با استون ۸۰٪ به حجم رسانده شد. مقدار کلروفیل نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۰-۱۲۰-UV ساخت ژاپن) در دو طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد.

با استفاده از فرمول زیر مقدار کلروفیل کل برگ محاسبه شد.

$$\text{Chlorophyll (mg g}^{-1}\text{ F.w.)} = ([20.2\ (A_{645}) + 8.02\ (A_{663}) \times V/(W \times 1000)])$$

که در آن A: مقدار جذب در طول موج مورد نظر، V: حجم نهایی عصاره و استون و W: وزن تازه برگ است.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تیمار آبیاری و دو رقم انار انجام شد. هر تیمار ۴ تکرار و هر تکرار ۳ گیاه داشت. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارSAS ومقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار ویژگی‌های رشدی در انار شد (جدول ۱). با افزایش تنش رطوبتی به ۲۵٪ ظرفیت مزرعه، طول شاخه به ترتیب در رقم‌های رباب و شیشه گپ در مقایسه با تیمار شاهد ۲۳ و ۵۰٪ کاهش

۱- (LMA) Leaf maas per unit area.

۲- Ninhydrin

یافت. در تیمار ۱۰۰٪ ظرفیت مزرعه، طول ریشه در 'شیشه گپ' (۴۴/۸ سانتی‌متر) به طور معنی‌داری بلندتر از طول ریشه رقم رباب (۳۵/۵ سانتی‌متر) بود. در رقم رباب با افزایش تنش رطوبتی به ۷۰ و ۵۰٪ طول ریشه افزایش یافت و در ۲۵٪ تنش بود که طول ریشه به طور معنی‌داری کاهش یافت. در صورتی که در 'شیشه گپ' با افزایش تنش به ۷۵٪، طول ریشه به طور معنی‌داری کاهش یافت. برهمکنش رقم و تیمارهای مختلف خشکی نشان داد که در سطح خشکی ۷۵٪ رقم رباب بیشترین وزن تر ریشه (۳۴ گرم) را نشان داد که به طور معنی‌داری بیشتر از دیگر تیمارها بود. بیشترین وزن خشک ریشه (۱۴/۹گرم) مربوط به رقم رباب در ۷۵٪ ظرفیت مزرعه بود که به طور معنی‌داری بیشتر از رقم شیشه گپ در همین تیمار آبیاری است. بدون در نظر گرفتن سطح‌های مختلف آبیاری رقم رباب به طور معنی‌داری وزن خشک ریشه بیشتری (۱۱/۴ گرم) نسبت به رقم شیشه گپ داشت (جدول ۱).

جدول ۱- برهمکنش خشکی و رقم بر طول شاخه و ریشه (سانتی‌متر) و وزن تر و خشک ریشه (گرم).

Table 1. Interaction of water stress and cultivar on shoot and root length (cm) and fresh and dry weight (g).

رقم Cultivar	مقدار آبیاری Irrigation rate (FC %) 25	50	75	100	میانگین Mean
	طول شاخه Shoot length (cm)				
'رباب' 'Rabbab'	34.4 c†	42.8 ab	43.8 ab	45 a	41.5 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	21.5 d	34.2c	38.4 bc	43.5 ab	34.4 B
میانگین Mean	28 C	38.5B	41.1 B	44.3 A	
	طول ریشه Root length (cm)				
'رباب' 'Rabbab'	28.0 e†	40.25 abc	42.5 ab	35.5 bcd	36.6 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	32.3 cde	33.3 e	36.3 bcd	44.8 a	36.8 A
میانگین Mean	30.1 B	37.9 A	38.3 A	40.1 A	
	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)				
'رباب' Rabbab	15.4 bc	22.6 bc	34.0 a	23.8 b	24.0 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	18.8 bc	14.4 c	15.1 bc	18.1 bc	16.6 B
میانگین Mean	17.1 B	18.5 B	24.6 A	20.9 AB	
	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)				
'رباب' Rabbab	9.8 ab	9.5 ab	14.9 a	11.5 ab	11.4 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	9.6 ab	7.6 b	6.8 b	6.0 b	7.5 B
میانگین Mean	9.7 A	8.5 A	10.8 A	8.7 A	

† In each row and column, means with the same letters (small letters for interaction and big letters for main effects) are not significantly different using Tukey' test $P \leq 0.05$.

† در هر ردیف و ستون میانگین‌های با حرف‌های مشابه (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌ها نشان داد که با کاهش مقدار آبیاری، وزن برگ در واحد سطح افزایش یافت (جدول ۲). این افزایش به ترتیب در رقم‌های رباب و شیشه گپ در تیمار ۲۵٪ آبیاری نسبت به شاهد ۷۰ و ۱۰٪ (FC ۱۰۰٪) بود.

جدول۲- برهمکنش خشکی و رقم بر وزن برگ در واحد سطح (میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع).

Table 2. Interaction of water stress and cultivar on leaf mass per unit area (LMA) (mg cm^{-2}).

رقم Cultivar	مقدار آبیاری Irrigation rate (FC %)				میانگین Mean
	25	50	75	100	
	وزن برگ در واحد سطح LMA (mg cm^{-1})				
'رباب' 'Rabbab'	1.7 a†	1.1 b	1.1 b	1 b	1.2 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	1.0 b	0.9 b	0.8 b	0.9 b	0.9 B
میانگین Mean	1.3 A	1.0 B	1.0 B	1.0 B	

† In each row and column, means with the same letters (small letters for interaction and big letters for main effects) are not significantly different using Tukey' test $P \leq 0.05$.

† در هر ردیف و ستون میانگین‌ها با حرف‌های مشابه (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی تفاوت معنی‌داری ندارند.

تنش خشکی اثر معنی‌داری بر شاخص‌هایی مانند تعداد شاخساره، تعداد برگ و وزن تر و خشک داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش تنش خشکی شاخص‌های بالا به صورت معنی‌داری کاهش یافت. یافته‌های این مطالعه نشان داد مقدار رشد در رقم شیشه گپ در شرایط شاهد (FC ۱۰۰٪) تفاوت معنی‌داری با رقم رباب نداشت. اما رشد رویشی 'شیشه گپ' در تنش‌های ملایم‌تر رطوبتی ۷۵ تا ۵۰٪ نسبت به رقم رباب آسیب پذیرتر بود. به عنوان مثال در FC ۵۰٪، تعداد شاخه و تعداد برگ در رقم رباب به ترتیب ۲۴٪ و ۱۹٪ کاهش داشت، در صورتی که این کاهش در رقم شیشه گپ به ترتیب ۵۰٪ و ۳۰٪ بود. نتیجه‌ها نشان می‌دهد که به طور کلی با پیشرفت تنش خشکی رشد رویشی کاهش یافت و این کاهش رشد رویشی در 'شیشه گپ' بیشتر از رقم رباب بود.

کاهش سطح برگ و تعداد برگ در اثر افزایش تنش خشکی سبب کاهش هدر رفت آب و تعرق و به دنبال آن کاهش تعداد برگ در شرایط تنش خشکی یک سازش ریخت‌شناسی و عاملی برای انتشار مجدد ماده‌های غذایی در گیاه است. نتیجه‌های این پژوهش با نتیجه‌های پژوهش‌های جلیلی مرندی و همکاران (۴)، غلامی و راحمی (۶)، وانگ و همکاران (۲۷) و ضرابی و همکاران (۵) مشابه بود.

جدول۳- برهمکنش خشکی و رقم بر تعداد شاخساره، سطح برگ (سانتی‌متر مربع)، تعداد برگ و وزن تر و خشک برگ (گرم).

Table 3. Interaction of water stress and cultivar on number of shoot, leaf area (cm^2), number of leaf, leaf fresh and dry weight (g).

رقم Cultivar	مقدار آبیاری Irrigation rate (FC %) 25	50	75	100	میانگین Mean
	تعداد شاخساره Number of shoot				
’رباب‘ ‘Rabbab’	3.3 b-e †	4.8 a-c	5.3 a	6.3 ab	34.9 A
’شیشه گپ‘ ‘Shishehgap’	1.3 e	1.9 c-e	2.3 de	3.8 b-d	2.3 B
میانگین Mean	2.3 B	3.3 A	3.8 A	5.0 A	
	تعداد برگ Number of leaf				
’رباب‘ ‘Rabbab’	53.0 de	95.2 ab	111.5 a	116.8 a	93.9 A
’شیشه گپ‘ ‘Shishehgap’	20.3 d	61.0 b-d	68. 8 bc	88.3 a-c	56.6 B
میانگین Mean	36.1 C	78.1 B	90.1 AB	102.5 A	
	وزن تر برگ Leaf fresh weight (g)				
’رباب‘ ‘Rabbab’	1.8 c	15.5 ab	16.8 ab	21.0 a	13.8 A
’شیشه گپ‘ ‘Shishehgap’	2.5 c	13.0 b	16.0 ab	16.0 ab	11.9 B
میانگین Mean	2.1 C	14.2 B	16.4 AB	18.5 A	
	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)				
’رباب‘ ‘Rabbab’	0.8 b	8.5 a	9.3 a	11.3 a	7.4 A
’شیشه گپ‘ ‘Shishehgap’	1.5 b	7.8 a	8.0 a	8.3 a	6.4 A
میانگین Mean	1.1 B	8.1 A	8.6 A	9.8 A	

† In each row and column, means with the same letters (small letters for interaction and big letters for main effects) are not significantly different using Tukey’ test $P \leq 0.05$.

† در هر ردیف و ستون میانگین‌هایی با حرف‌های مشابه (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی تفاوت معنی‌داری ندارند.

در هر دو رقم با افزایش تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (جدول ۴). با افزایش تنش خشکی به ۲۵٪ ظرفیت زراعی، محتوای نسبی آب برگ در رقم‌های رباب و شیشه گپ در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۲۹٪ و ۴۵٪ کاهش یافت؛ همچنین در تیمار۵۰٪ ظرفیت زراعی، درصد محتوای نسبی آب برگ رقم شیشه گپ (۶۵/۳٪) به طور معنی داری کمتر از ’رباب‘ (۷۹٪) بود (جدول ۴).

نتیجه‌ها نشان داد با افزایش تنش خشکی، نشت یونی افزایش یافت. در هر سطح آبیاری مقدار نشت یونی در رقم شیشه گپ بیشتر از رقم رباب بود اگر چه تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. به طور کلی، مقدار نشت یونی در رقم شیشه گپ (۶۲/۴٪) به طور معنی‌داری بیشتر از رقم رباب (۵۵/۹٪) بود (جدول ۴). در هر دو رقم افزایش تنش خشکی سبب افزایش نشت یونی و کاهش محتوای نسبی آب شد (شکل ۱). این می‌تواند به این مفهوم باشد که دیواره یاخته‌ای در شرایط تنش آبی آسیب دیده، تراویی آن افزایش و بنابراین مقدار محتوای نسبی آب کاهش یافته است.

چنانچه مشاهده شد رقم رباب در تمام سطح‌های آبیاری مقدار محتوای نسبی آب برگ بیشتری نسبت به رقم شیشه گپ در خود حفظ کرده است. این رقم با حفظ پایداری غشای خود توانسته است نشت ماده‌های یاخته‌ای به خارج یاخته را کاهش بدهد و پتانسیل اسمزی خود را حفظ کند و به دنبال آن محتوای نسبی آب بیشتری داشته باشد و با این سازوکار تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان دهد. رقم‌های با محتوای نسبی آب بالا با بستن روزنه‌های خود و تعرق کمتر در شرایط تنش خشکی و یا با داشتن سیستم ریشه‌ای قوی‌تر می‌توانند آب را از خاک جذب و به شاخساره منتقل و محتوای نسبی آب خود را در سطح بالایی حفظ کنند. در رژیم‌های مختلف رطوبتی هدایت روزنه‌ایی تغییر می‌یابد. با افزایش تنش خشکی هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد و این منجر به کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (۴). کاهش محتوای نسبی آب برگ با افزایش تنش خشکی در میوه‌های مختلف مانند سیب و زیتون مشاهده شده است (۵، ۸، ۲۷).

جدول ۴- برهمکنش خشکی و رقم بر محتوای نسبی آب برگ (٪) و نشت یونی (٪).

Table 4. Interaction of water stress and cultivar on relative water content (RWC) (%) and membrane stability index (%).

رقم Cultivar	مقدار آبیاری Irrigation rate (FC %) 25	50	75	100	میانگین Mean
	محتوای نسبی آب RWC (%)				
'رباب' 'Rabbab'	63.8 cd†	79.0 b	82.5 ab	90.3 ab	78.8 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	50.5 d	65.3 c	88.3 ab	93.5 a	74.4 B
میانگین Mean	57.1 C	72.1 B	85.3 A	91.9 A	
	نشت یونی Ion leakage (%)				
'رباب' 'Rabbab'	65.8 ab	54.8 a-c	54.3 bc	44.5 c	55.9 B
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	76.2 a	61.8 a-c	58.0 a-c	53.6 bc	62.4 A
میانگین Mean	71.0 A	60.3 B	56.1 BC	49.0 C	

† In each row and column, means with the same letters (small letters for interaction and big letters for main effects) are not significantly different using Tukey' test $P \leq 0.05$.

† در هر ردیف و ستون میانگین‌هایی با حرف‌های مشابه (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی تفاوت معنی‌داری ندارند.

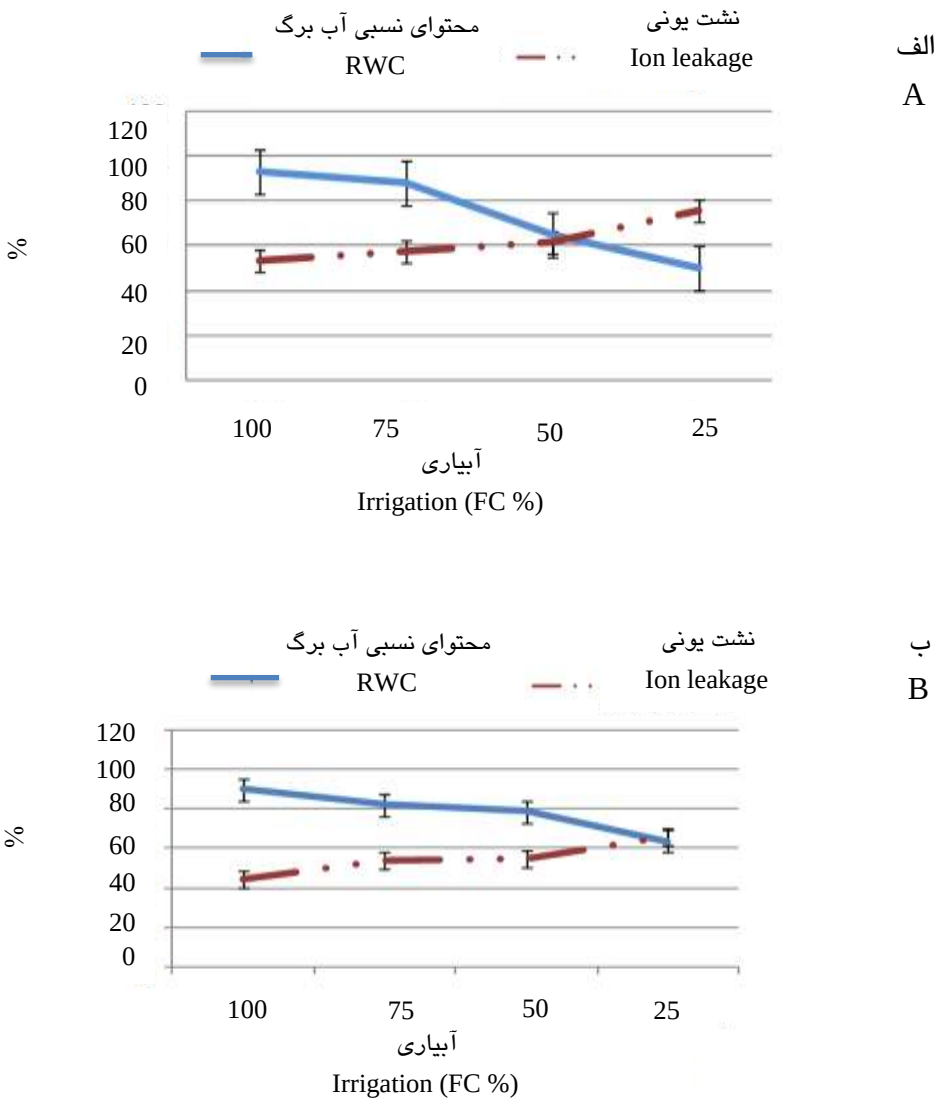

Fig. 1. Changes of relative water content (RWC) and ion leakage in the leaf of two cultivars of pomegranate 'Rabab' (A) and 'Sheshehgap' (B).

شکل ۱- تغییرهای محتوای نسبی آب (RWC) و نشت یونی (Ion leakage) در برگ دو رقم انار 'رباب' (الف) و 'شیشه گپ' (ب).

نتیجه‌ها نشان داد با افزایش شدت تنش خشکی، مقدار کلروفیل کل در هر دو رقم به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۵). مقدار کلروفیل در رقم رباب در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی۳۶٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در رقم شیشه گپ این کاهش به طور معنی‌داری بیشتر از 'رباب' بود و به ۶۸٪ در مقایسه با تیمارشاهد رسید (جدول ۵). اثر برهمکنش خشکی و رقم بر مقدار پرولین در برگ نشان داد که در هر دو رقم با افزایش خشکی مقدار پرولین افزایش پیدا کرد. در رقم رباب مقدار پرولین در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی در مقایسه با تیمار شاهد ۹۴٪ افزایش یافت و در رقم شیشه گپ در همین تیمار نسبت به تیمار شاهد ۵۰٪ افزایش داشت (جدول ۵). این افزایش در همه سطح‌های خشکی در رقم رباب بیشتر از رقم شیشه گپ بود و در تیمار FC ۲۵٪، مقدار پرولین (۳/۷ میکرومول بر گرم وزن تر) به طور معنی‌داری بیشتر از رقم شیشه گپ (۲/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) بود.

کاهش کلروفیل یکی از نشانه‌های معمول تنش اکسیداتیو است (۱۴). عامل‌های محدود کننده فتوسنتز در تنش خشکی در دو گروه عامل‌های محدود کننده روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای قرار می‌گیرند. از عامل‌های محدود کننده

غیرروزنه‌ای می‌توان به کاهش و یا توقف ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها اشاره کرد (۲۴). به نظر می‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل به دلیل اثر کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیب‌های فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل، یا به دلیل مصرف گلوتامات -ماده پیش ساخت کلروفیل و پرولین- در تولید پرولین باشد. مقدار تجمع پرولین وابسته به نژادگان می‌باشد که با نتیجه‌های به دست آمده توسط لطفی و همکاران (۲۱) در نژادگان‌های مختلف گردو همسو است. در هر دو رقم افزایش تنش خشکی سبب افزایش پرولین و کاهش کلروفیل شد (شکل ۲). تنش خشکی مقدار آنزیم گلوتامات لیگاز برای ساخت کلروفیل را کاهش می‌دهد و در مقابل آنزیم گلوتامات کیناز آنزیم سازنده پرولین افزایش می‌یابد. علت دیگر کاهش کلروفیل می‌تواند به دلیل مصرف نیتروژن در ساخت پرولین باشد (۲۶). نتیجه‌های ما با نتیجه‌های غلامی و راحمی (۶)، ضرابی و همکاران (۵) و ال - وافا (۱۵) مطابقت داشت. اولین واکنش گیاهان در برابر تنش خشکی کاهش رشد رویشی آنها است. کاهش فشار آماس می‌تواند اولین اثر ناشی از تنش خشکی باشد که بر سرعت رشد یاخته و اندازه نهایی آن اثر می‌گذارد و حساس‌ترین فرایند یاخته نسبت به تنش است.

جدول۵- برهمکنش خشکی و رقم بر مقدار کلروفیل کل (mg g^{-1} F.w.) و پرولین (µmol g^{-1} F.w.).

Table 5. Interaction of water stress and cultivar on chlorophyll (mg g^{-1} F.w) and proline (µmol g^{-1} F.w.)

رقم Cultivar	مقدار آبیاری Irrigation rate (FC %) 25	50	75	100	میانگین Mean
	مقدار کلروفیل کل Chlorophyll (mg g^{-1} F.w.)				
'رباب' 'Rabbab'	60.2 b†	78.5 ab	87.3 a	94.8 a	80.2 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	27.8 c	61.9 b	79.5 ab	88.2 a	64.3 B
میانگین Mean	43.9 C	70.2 B	83.4 A	91.9 A	
	پرولین Proline (µmol g^{-1}F.w.)				
'رباب' 'Rabbab'	3.7 a	2.5 b	2.0 bc	1.9b c	2.5 A
'شیشه گپ' 'Shishehgap'	2.1 bc	1.9 bc	1.7 bc	1.4 c	1.8 B
میانگین Mean	2.9 A	2.2 B	1.8 B	1.7 B	

† In each row and column, means with the same letters (small letters for interaction and big letters for main effects) are not significantly different using Tukey' test $P \leq 0.05$.

† در هر ردیف و ستون میانگین‌هایی با حرف‌های مشابه (حرف‌های کوچک برای برهمکنش و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی تفاوت معنی‌داری ندارند.

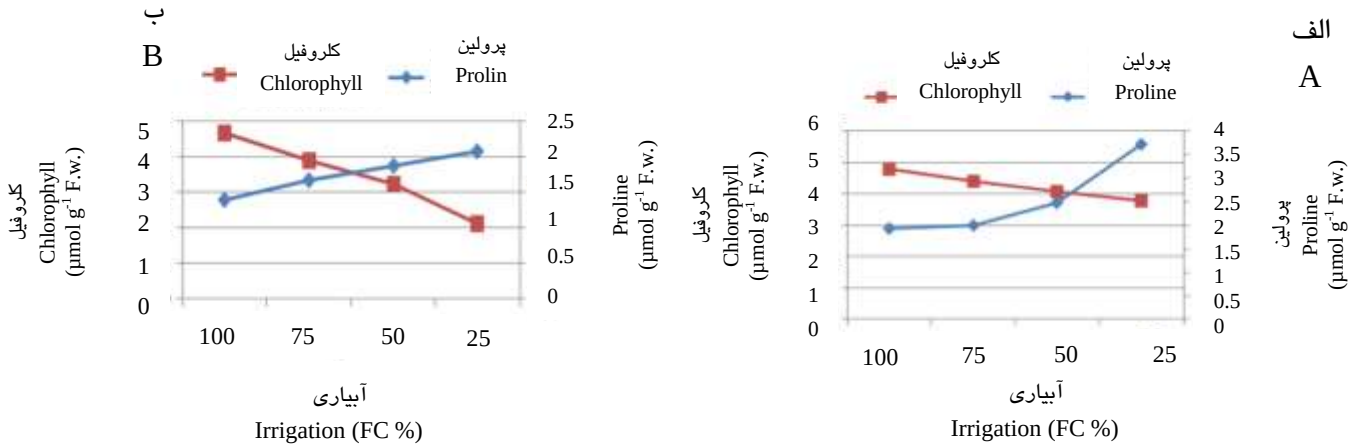

Fig. 2. Changes of total chlorophyll and proline in the leaf of two cultivars of pomegranate 'Rabab' (A) and 'Sheshehgap' (B).

شکل ۲- تغییرهای کلروفیل کل و پرولین در برگ دو رقم انار 'رباب' (الف) و 'شیشه گپ' (ب).

نتیجه‌گیری

پژوهش انجام شده، اطلاع‌های نسبی از ویژگی‌های ریخت‌فیزیولوژیک رقم‌های انار 'رباب' و 'شیشه گپ' در دوره تنش خشکی ارائه می‌دهد. با افزایش تنش خشکی شاخص‌های رشدی هر دو رقم کاهش یافت، اما این کاهش در 'شیشه گپ' شدیدتر بود. تنش خشکی همچنین سبب کاهش محتوای نسبی آب و افزایش نشت یونی در هر دو رقم شد که در این مورد هم رقم رباب توانست با حفظ محتوای نسبی آب بیشتر، شرایط تنش خشکی را بهتر از رقم شیشه گپ تحمل کند. همچنین با افزایش تنش، تجمع پرولین به عنوان یک اسمولیت تنظیم کننده پتانسیل اسمزی در رقم رباب بیشتر بود. بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که رقم رباب تحمل بیشتری نسبت به رقم شیشه گپ دارد.

منابع References

۱. بهزادی شهر بابکی، ح. ۱۳۷۷. پراکندگی و گوناگونی ارقام انار در ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. کرج. ۲۲۶ ص

۲. بی نام. ۱۳۸۹. نتایج آمار گیری نمونه ای محصولات باغی سال ۱۳۸۷. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت امور برنامه ریزی و اقتصادی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات. تهران. ۹۵ ص.

۳. بی نام. ۱۳۹۳. آمارنامه کشاورزی. وزارت جهاد کشاورزی. معاونت برنامه ریزی و اقتصادی. مرکز فن¬آوری اطلاعات و ارتباطات. جلد سوم. ۱۵۶ ص. http://www.agri-jahad.ir.

۴. جلیلی مرندی، ر.، ع. حسنی، ح. دولتی بانه، ح. عزیزی و ر. حاجی تقی لو ۱۳۹۰. تاثیر سطوح مختلف رطوبت خاک بر خصوصیات مورفولوژی و فیزیولوژیکی سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.). مجله علوم باغبانی. ۳۱:۴۲-۴۱.

۵. ضرابی، م.م.، ع. طلایی، ع، سلیمانی و ر. حداد. ۱۳۸۹. نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیائی شش رقم زیتون *Olea europaea* L. در برابر خشکی. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۴۴-۲۳۴: ۴۲.

۶. غلامی، م. و م. راحمی ۱۳۸۸. بررسی وضعیت رشد و نمو و تنظیم اسمزی در دو پایه بادام تحت چهار رژیم مختلف آبیاری. همایش ملی مسایل و راه‌کارهای مقابله با خشک‌سالی. دانشگاه شیراز. ۱۷۲-۱۸۱.

۷. محسنی، ع. ۱۳۸۲. نگاهی به وضعیت تولید انار. دفتر امور میوه های گرمسیری و نیمه گرمسیری- معاونت امور تولیدات گیاهی – وزارت جهاد کشاورزی. تهران. ۳۹ ص.

8. Alizadeh, A., A. Alizade, V. Nassery, L. and A. Eivazi. 2011. Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. Tech. J. Eng. Appl. Sci. 1-3:86-94.
9. Basu, A., D. Emily, L. Alecia, J. Timothy and M. Betts. 2013. Pomegranate polyphenols lower lipid peroxidation in adults with type 2 diabetes but have no effects in healthy volunteers: A Pilot Study. J. Nutric. Metabol. 2013:1-3.
10. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline water stress studies. Plant Soil 39:205-207.
11. Benešová, M., D. Holá, L. Fischer, P.L. Jedelský, F. Hnilička, N. Wilhelmová, O. Rothová, M. Kočová, D. Procházková, J. Honnerová, L. Fridrichová and H. Hniličková. 2012. The physiology and proteomics of drought tolerance in maize: Early stomatal closure as a cause of lower tolerance to short-term dehydration? PLoS ONE. 7:1-17.
12. Chaitanya, K.V., P.P. Jutur, D. Sundar and A. Ramachandra Reddy. 2003. Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars. Plant Growth Regul. 40:75-80.
13. Dourado, M.N., P.F. Martins, M.C. Quecine, F.A. Piotto, L.A. Souza, M.R. Franco, T. Tezotto and R.A. Azevedo. 2013. Burkholderia sp. SCMS54 reduces cadmium toxicity and promotes growth in tomato. Annu. Appl. Biol. 163:494-507.
14. Egert, M. and M. Tevini. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environ. Exp. Bot. 48:43-49.
15. El-Wafa, M. 2002. Effect of some treatments on drought resistance of transplants of some pomegranate cultivars. M.Sc. Thesis, Hort. Dept. Fac. Agric. Cairo Univ. Egypt. 132 p.
16. Eslamian, S. and S. Soltani. 2001. Plenty analysis of flood (Translation). Arkan Pub. 344 p.
17. Gholami, M. and M. Rahemi. 2009. Effect of irrigation regimes on water status and photosynthetic parameters of peach-almond hybrid (GF677) seedling and cuttings. Hort. Environ. Biotechnol. 50:94-99.
18. Gur, A. 1985. "*Punica granatum*". Handbook of Flowering. Vol. IV. CRC Press Inc. Boca Raton Florida, U.S.A. 575 p.
19. Holland, D., K. Hatib and I. Bar-Ya'akov. 2009. Pomegranate: Botany, horticulture, breeding. Hort. Rev. Amer. Soc. Hort. Sci. 35:127-191.
20. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigment of photosynthetic biomembrance. Methods Enzymol. 148:350- 381.
21. Lotfi, N., K. Vahdati, B. Kholdebarin and R. Amiri. 2010. Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. Fruits 65:97-112.
22. Luo, L.J. 2010. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (WDR) in China. J. Exp. Bot. 61:3509-3517.

23. Medici, L.O., F. Reinert, D.F. Carvalho, M. Kozak, and R. Azevedo. 2014. What about keeping plants well watered? Environ. Exp. Bot. 99:38-42.
24. Oliviera-Neto, C.F., A.K. Silva-Lobato, M.C. Goncalves-Vidigal, R.C.L. Costa B.G. Santos.Filho, G.A.R. Alves, W.J.M. Silva-Maia, F.J.R. Cruz, H.K.B. Neres and M.J. Santos Lopes. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. Sci. Technol. 7:588-593.
25. Patakas, A., N. Nikolaou, E. Zioziou, K. Radoglou and B. Noitsakis. 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Sci. 163:361-367.
26. Silva, M.A., J.L. Jifon, J.A.G. Silva and V. Sharma. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian J. Plant Physiol. 19:193-201.
27. Wang, S., D. Liang, C. Li, Y. Hao, F. Ma and H. shu. 2011. Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system. Plant Physiol. Biochem. 51:81-89.

Morph-Physiological Changes of Two Cultivars of Pomegranate 'Rabab' and 'Shisheh Gap' under Water Stress Conditions

M. Ebtadaei and A. Shekafande[*1]

Water is one of the major limiting factors for agricultural crops in arid and semiarid regions of the world. Iran is one of the largest producers and exporters of pomegranate in the world. In this research, the effect of water stress on some morphological and physiological responses of one year old saplings of two pomegranate cultivars, 'Rabab' and 'Shishehgap' was investigated. A factorial experiment was conducted in a complete randomized design with 4 replications and two plants in each replicate. Treatments were 4 levels of irrigations of 100, 75, 50 and 25% field capacity and two cultivars. The results showed that in both cultivars, with increasing drought, growth indices such as leaves number, shoot length, chlorophyll content and relative water content (RWC) decreased but the amount of proline and ion leakage increased. In this regard, 'Rabab' with more proline accumulation and less ion leakage as well as maintenance of RWC in comparison to 'Shishehgap' showed more tolerance to water stress and better its growth performance.

Key Words: Pomegranate, Proline, Water stress, RWC, Ion leakage.

1. Former M.Sc. Student and Associate Professor of Horticulture, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz. I.R.Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (shekafan@shirazu.ac.ir)