

اثر تنش خشکی بر محتوی فنل، فلاونوئید و سیانیدین-۳-گلوکوزاید آب میوه و عملکرد میوه در ژنوتیپ‌های بومی انار (*Punica granatum L.*)

سکینه فرجی^۱، مهدی حدادی‌نژاد^{۲*}، وحید عبدوسی^۳، طیبه بساکی^۴ و ثریا کرمی^۴

- ۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، پژوهشکده فناوری‌های زیستی گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران، پست الکترونیک: m.hadadinejad@sanru.ac.ir
- ۳- استادیار، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۴- استادیار، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیب‌های پلی‌فنولیک آب میوه انار (*Punica granatum L.*) (محتوی فنل تام، فلاونوئید تام و سیانیدین-۳-گلوکوزاید) و همچنین عملکرد میوه، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار (سطوح آبیاری در پلات اصلی و ژنوتیپ‌های انار در پلات فرعی) اجرا شد. براساس نتایج بدست آمده، تنش خشکی منجر به افزایش محتوی ترکیب‌های پلی‌فنولیک آب میوه ($P < 0.05$) و کاهش عملکرد میوه ($P < 0.05$) در مقایسه با شرایط عدم تنش (75 ± 5 FC) گردید. با وجود این اعمال تنش ملایم (55 ± 5 FC) در مقایسه با تنش شدید (35 ± 5 FC) منجر به افت کمتر در عملکرد میوه شد ($P < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که ارقام مورد بررسی می‌توانند به‌عنوان منبع غنی از ترکیب‌های فنولی مورد توجه قرار گیرند؛ با وجود این بیشترین تفاوت ارقام در سطوح مختلف آبیاری در محتوی سیانیدین-۳-گلوکوزاید بود. از سوی دیگر براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، در شرایط عدم تنش و تنش ملایم، ژنوتیپ‌های (AMA) Agha Mohamad Ali، (Pust Sefid)، (PST) Torsh، (MTS) Malas Torshe Saveh و (MSS) Malas Shirine Saveh را می‌توان به‌دلیل عملکرد بالای میوه و ترکیب‌های پلی‌فنولیک به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر و غنی از مواد آنتی‌اکسیدانی طبیعی در صنایع غذایی و دارویی پیشنهاد نمود. در مجموع، به‌دلیل اهمیت قابلیت عملکرد تحت تنش خشکی، تیمار تنش خشکی ملایم (55 ± 5 FC) را می‌توان به‌عنوان سطح متعادلی از تنش به‌منظور دستیابی به سطح قابل قبولی از متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه سیانیدین-۳-گلوکوزاید و عملکرد میوه در منطقه ساوه معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: تنش آبی، ترکیب‌های پلی‌فنولیک، انار (*Punica granatum L.*)، عملکرد.

مقدمه

انار (*Punica granatum L.*) به‌عنوان یکی از مهمترین میوه‌های گرمسیری و نیمه‌گرمسیری شناخته شده در دنیا، نه تنها به‌دلیل مصرف تازه‌خوری آن، بلکه به‌دلیل کاربردهای وسیع دارویی آب میوه انار در تقویت سیستم ایمنی بدن (Lee *et al.*, 2008)، پیشگیری از بیماری‌های قلبی (Johanningsmeier & Harris, 2011)، فیروز کبدی (Thresiamma & Kuttan, 1996) و همچنین خواص ضد سرطانی (Afaq *et al.*, 2005؛ Whitley *et al.*, 2003)، ضد باکتریایی (Prashanth *et al.*, 2001؛ Duman *et al.*, 2009)، ضد قارچی (Dutta *et al.*, 1998) و ضد اسهال (Das *et al.*, 1999)، امروزه در بخش‌های درمانی و صنایع غذایی از اهمیت خاصی برخوردار است. بررسی‌های انجام شده نشان داده است که متابولیت‌های ثانویه موجود در آب میوه انار همانند ترینوئیدها، توکوفرول، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در خواص پیش‌گیرنده و درمانی آب میوه انار نقش مهمی ایفاء می‌کنند (Seeram *et al.*, 2006).

آنتوسیانین‌ها به‌عنوان گروهی از فلاونوئیدهای محلول در آب با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بالا بدون اثرهای جانبی (Myung & Hwang, 2008) مسئول درخشندگی آب میوه انار هستند (Perez-Vicente *et al.*, 2002) و سیانیدین-۳-گلوکوزاید (Cyd-3-glu) به‌عنوان متداول‌ترین ترکیب آنتوسیانینی در طبیعت، با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۳/۵ برابر قوی‌تر از ترولوکس (Trolox) شناخته شده است (Wang *et al.*, 1997). به‌طور کلی، یکی از کاربردهای وسیع ترکیب‌هایی با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا به‌ویژه در صنایع غذایی و تبدیلی، جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها به‌عنوان یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت مواد غذایی می‌باشد؛ بنابراین تأخیر در اکسیداسیون لیپیدها، از جمله فاکتورهای قابل توجه و اصلی در صنایع غذایی و تبدیلی به‌شمار می‌آید (Fernandez-Lopez *et al.*, 2005). از سوی دیگر به‌دلیل سمیت بالقوه بسیاری از مواد غیرطبیعی (مصنوعی) به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، چاشنی یا طعم‌دهنده، تقاضا برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی رو به

افزایش است (Nicola *et al.*, 2016). نقش آنتوسیانین‌ها به‌عنوان ترکیب‌هایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و حذف رادیکال‌های آزاد در بسیاری از مطالعات تأیید شده است (Abdel-Aal *et al.*, 2006). به‌عنوان مثال، Akhavan و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی ژنوتیپ‌های انار ایرانی با استفاده از تکنیک UHPLC، وجود Cyd-3-glu را به‌عنوان ده ترکیب آنتوسیانینی اصلی در آب میوه انار گزارش کردند. علاوه بر این Akhavan و همکاران (۲۰۱۵) با استفاده از سه سیستم ABTS، FRAP و DPPH نشان دادند که بین ترکیب‌های آنتوسیانینی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آب میوه انار رابطه مثبتی وجود دارد. ارتباط مثبت و معنی‌داری بین محتوی Cyd-3-glu و فعالیت حذف رادیکال‌های آزاد در سایر گیاهان از جمله پوسته بذر گلرنگ نیز گزارش گردید (Karami *et al.*, 2018). همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی سایر متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیب‌های فلاونوئیدی و فنولی نیز در آب میوه انار (Gill *et al.*, 2000) و برخی از گیاهان دارویی به اثبات رسیده است (Hatamnia *et al.*, 2014؛ Tohidi *et al.*, 2017).

تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی امروزه در سرتاسر جهان یکی از مهمترین چالش‌های موجود در کشت گیاهان زراعی و باغی به‌شمار می‌آید؛ به‌طوری که نتایج پژوهش‌های مختلف حکایت از آن دارد که تنش خشکی با برهم زدن شرایط مطلوب سبب بروز اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی شده که این امر منجر به تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) می‌گردد (Nickavar *et al.*, 2006). در چنین شرایطی برای مقابله با این ترکیب‌ها، فرایندهای دفاعی آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فعال می‌شود؛ به‌طوری که نتایج تحقیقات نشان داده است که تغییر در تولید متابولیت‌های ثانویه یکی از مهمترین سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر افزایش تولید اکسیژن فعال تولید شده در شرایط تنش می‌باشد (Ma *et al.*, 2014). در واقع کمبود هر منبعی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود نماید، منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌گردد (Asada *et al.*, 2000). Castellarin و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که

تغییرات برخی متابولیت‌های ثانویه (ترکیب‌های فنیل پروپانوییدی) انارهای بومی ایران تحت تأثیر سطوح متفاوت تنش خشکی در مناطقی همانند ساوه به عنوان مطرح‌ترین مرکز تولید انار در کشور انجام نشده است. بنابراین هدف از این مطالعه: (۱) تعیین محتوای فنل تام، فلاونوئید تام، سیانیدین ۳-گلوکوزاید آب میوه انار و همچنین عملکرد میوه ژنوتیپ‌های بومی انار در شرایط نرمال آبیاری و دو سطح تنش ملایم و شدید؛ (۲) شناسایی ژنوتیپ‌های بومی انار با قابلیت بالای تولید عملکرد کمی و کیفی میوه در شرایط تنش خشکی با دو دیدگاه کاربرد تجاری یا دارویی بود.

تحت تنش خشکی بیوسنتز آنتوسیانین در مرحله رسیدگی میوه انگور به شدت افزایش یافت. همچنین نتایج Wahid و Ghazanfar (۲۰۰۶) نشان داد که افزایش متابولیت‌های ثانویه از نوع ترکیب‌های فنولی، آنتوسیانینی و فلاونوئیدی در ایجاد مقاومت به تنش شوری نقش مؤثری ایفاء می‌نمایند. Gharibi و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه ترکیب‌های فنولیک در گیاه دارویی بومادران بیابانی گردید. با وجود بررسی‌های وسیع در مورد تعیین پروفایل ترکیب‌های پلی‌فنولیک در انار، تحقیق جامعی بر میزان و

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های انار مورد بررسی در این تحقیق

ژنوتیپ	منشأ	مزه	رنگ پوست	رنگ آریل	سختی دانه
(PS) Post Siyah	استان یزد	ترش-شیرین	سیاه	زرد	سخت
(AMA) Agha Mohamad Ali	استان مرکزی	ترش-شیرین	صورتی پر رنگ	صورتی	سخت
(AS) Alake Shirin	استان مرکزی	شیرین	قرمز	قرمز	سخت
(AT) Alake Torsh	استان مرکزی	ترش	قرمز	قرمز	سخت
(MSS) Malas Shirin Saveh	استان مرکزی	شیرین	قرمز	قرمز	سخت
(MTS) Malase Torshe Saveh	استان مرکزی	ترش-شیرین	قرمز	قرمز	سخت
(PST) Post Sefide Torsh	استان مرکزی	ترش	سفید	صورتی	سخت
(PSS) Post Sefide Shirin	استان مرکزی	شیرین	سفید	صورتی	سخت
(PSBS) Post Sefide Bihaste Shomal	استان مرکزی	ترش	سفید	صورتی	نرم
(TT) Tabestaniye Torsh	استان مرکزی	ترش-شیرین	صورتی-پررنگ	صورتی	سخت

مواد و روش‌ها

محل مورد آزمون ۳۵ درجه و ۱ دقیقه عرض شمالی، ۵۰ درجه و ۲۱ دقیقه طول شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۹۶۰ متر است. خاک ناحیه آزمایش دارای بافت لومی شنی ($Ec\ 3.85\ ds/m$) و متوسط بارش در منطقه ۱۹۴ میلی‌متر بود. آزمایش به‌صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. به‌طوری که کرت‌های اصلی به تیمار آبیاری (۳ سطح آبیاری) و کرت‌های فرعی به ۱۰ ژنوتیپ انار اختصاص داده شدند. در سطح آبیاری شاهد ($FC \pm 5\%$)، تنش ملایم

این آزمایش در اواسط اردیبهشت‌ماه سال زراعی ۱۳۹۵ به‌منظور بررسی اثرهای تنش خشکی (ملایم و شدید) بر عملکرد میوه (Yield) و ترکیب‌های پلی‌فنولیک عصاره انار شامل میزان فنل تام (TPC)، محتوای فلاونوئید تام (TFC) و سیانیدین ۳-گلوکوزاید (Cyd-3-glu) ده ژنوتیپ انار بومی ایران (درختان ۹ ساله) (جدول ۱) در باغ پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی واقع در ایستگاه تحقیقات انار ساوه اجرا شد. مختصات جغرافیایی

$$D_{\text{irrig}} = (\theta_{\text{fc}} - \theta_{\text{irrig}}) \times Z_e \times \rho$$

$$V_{\text{irrig}} = D_{\text{irrig}} \times A_{\text{field}}$$

D_{irrig} : عمق آبیاری (سانتی‌متر)؛ θ_{fc} : محتوی رطوبت خاک در ظرفیت مزرعه (%); θ_{irrig} : محتوی آب قابل دسترس در عمق توسعه ریشه؛ Z_e : عمق ریشه و ρ : چگالی ظاهری خاک؛ V_{irrig} : حجم آبیاری (لیتر)؛ A_{field} : ناحیه تحت آبیاری (مترمربع) می‌باشد.

صفات اندازه‌گیری شده

عملکرد میوه: برای اندازه‌گیری عملکرد میوه در اواسط آبان‌ماه ۱۳۹۵ همزمان با مرحله رسیدگی میوه، عملیات برداشت انجام گردید و قبل از انتقال میوه‌ها به انبار (رطوبت نسبی $95 \pm 2\%$ و درجه حرارت 4 ± 2 درجه سانتی‌گراد) کلیه میوه‌های برداشتی برای هر ژنوتیپ در هر سطح آبیاری وزن شد.

روش تهیه عصاره آریل

به‌منظور اندازه‌گیری محتوی ترکیب‌های پلی‌فنولیک، ۱۰ میوه به‌طور تصادفی برای هر ژنوتیپ و در هر سطح آبیاری انتخاب گردید و پس از جداسازی آریل، آبگیری از آریل‌ها با استفاده از دستگاه آبمیوه‌گیری دستی انجام شد. سپس عصاره حاصل با سرعت دوران ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول روشناور برای سنجش ترکیب‌های فعال زیستی جدا گردید.

محتوی فنل تام (TPC): محتوی فنل تام براساس روش فولین-سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) و با استفاده از گالیک اسید (GAE) به‌عنوان استاندارد، اندازه‌گیری شد (Sharma et al., 2015). بدین‌منظور به ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره میوه انار و محلول‌های استاندارد (GAE) با غلظت $100-0 \text{ mg ml}^{-1}$ رقیق شده با متانول ۸۰٪ (۱:۲۰)، ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو رقیق شده (۱:۱۰ v/v) اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه با افزودن ۲ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۲۰٪ (Na_2CO_3) و نگهداری در دمای آزمایشگاه به‌مدت ۳۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر تعیین و مقدار فنل تام از روی منحنی استاندارد

($55 \pm 5 \text{ FC}$) و تنش شدید ($35 \pm 5 \text{ FC}$) هنگامی‌که به‌ترتیب ۲۵، ۴۵ و ۶۵ درصد آب قابل دسترس ریشه در عمق ۴۰ سانتی‌متر تخلیه شد آبیاری دوباره انجام گردید (Allen et al., 1998). لازم به ذکر است که میزان رطوبت خاک به‌وسیله دستگاه TDR (مدل USA ۶۰۵۰x1) تعیین شد. رژیم‌های آبیاری مورد استفاده در این مطالعه براساس اعمال ضریب MAD (کسری از کل آب در دسترس که می‌تواند از عمق توسعه ریشه تخلیه گردد، بدون اینکه به گیاه تنشی وارد شود) انجام گردید. در این مطالعه به‌منظور اعمال تنش خشکی، وضعیت همه پلات‌ها تا مرحله تشکیل میوه از نظر آبیاری و اعمال مدیریت‌های باغی به صورت یکسان در نظر گرفته شد؛ سپس در زمان شروع اعمال تنش (بعد از تشکیل میوه) تا پایان تنش (مرحله رسیدگی میوه)، پلات‌ها در ۲۵٪ (به‌عنوان تیمار شاهد)، ۴۵٪ (به‌عنوان تنش رطوبتی ملایم) و ۶۵٪ (به‌عنوان تنش رطوبتی شدید) MAD، آبیاری شدند. از سوی دیگر فاصله بین دو آبیاری براساس اطلاعات رطوبت خاک ناشی از تبخیر و تعرق تعیین گردید. بدین‌منظور، با استفاده از دستگاه TDR (مدل USA ۶۰۵۰x1) در سه عمق مختلف توسعه ریشه (صفر تا ۲۰ سانتی‌متر، ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر و ۴۰ تا ۶۰ سانتی‌متر) میزان رطوبت خاک اندازه‌گیری شد. تعیین میزان رطوبت خاک به‌طور روزانه انجام گردید و بدین‌ترتیب زمان آبیاری تعیین شد. آبیاری پلات‌های آزمایشی براساس ضریب MAD و براساس فرمول زیر (Allen et al., 1998) اجرا گردید.

$$\theta_{\text{irri}} = \theta_{\text{fc}} - [(\theta_{\text{fc}} - \theta_{\text{pwp}}) \times \text{MAD}]$$

θ_{irrig} : درصد رطوبت مورد انتظار خاک در زمان آبیاری
 θ_{fc} و θ_{pwp} : به‌ترتیب درصد رطوبت خاک در ظرفیت زراعی مزرعه و نقطه پژمردگی
 MAD: به‌ترتیب برای تیمار شاهد، تنش ملایم و تنش شدید برابر ۲۵، ۴۵ و ۶۵ درصد
 عمق و حجم آبیاری نیز براساس محتوی رطوبت خاک و براساس فرمول‌های زیر برآورد گردید (Allen et al., 1998).

۱۵ دقیقه اندازه‌گیری شد. نتایج براساس میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه ($\text{mgQUE. } 100 \text{ ml}^{-1}\text{J}$) گزارش شد.

محتوی سیانیدین-۳- گلوکوزاید (Cyd-3-glu): به‌منظور آماده‌سازی و رقیق‌سازی عصاره، از محلول متانول اسیدی شده مطابق دستورالعمل Siegelman و Hendricks (۱۹۵۸) استفاده شد. محتوی Cyd-3-glu موجود در عصاره با استفاده از روش تفاوت pH دو سیستم بافری کلرید پتاسیم (0.025M KCl) با $\text{pH}=1$ و استات سدیم ($0.04\text{M AcONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) با $\text{pH}=4.5$ مطابق دستورالعمل Giusti و Wrolstad (۲۰۰۱) و در طول موج‌های ۵۳۰ و ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج طبق فرمول زیر و براساس میلی‌گرم سیانیدین-۳- گلوکوزاید در لیتر آب میوه ($\text{mg. } 100\text{L}^{-1}\text{J}$) گزارش گردید.

بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه ($\text{mgGAE. } 100 \text{ ml}^{-1}\text{J}$) محاسبه شد.

محتوی فلاونوئید تام (TFC): محتوی فلاونوئید تام موجود در عصاره انار تمامی نمونه‌ها به روش Zhang و همکاران (۲۰۰۶) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ۱۲۵ میکرولیتر عصاره رقیق شده هر نمونه با ۷۵ میکرولیتر نیتريت سدیم (NaNO_2) ۵٪ مخلوط گردید. بعد از گذشت ۶ دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر معرف کلرید آلومینیوم (AlCl_3) اضافه شد و در ادامه، ۷۵۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و $1/4$ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر بعد از گذشت ۵ دقیقه به مخلوط اضافه گردید. شدت جذب مخلوط حاصل در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر (Novaspec II Visible Spectrophotometer; Pharmacia Biotech) بعد از گذشت

$$A = (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Cyd-3-glu [mg. } 100\text{ml}^{-1}] = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\varepsilon \times 1)$$

مورد مطالعه و همه صفات اندازه‌گیری شده انجام گردید و بای‌پلات صفات و ژنوتیپ‌ها براساس نرم‌افزار Stat Graphics نسخه ۱۶/۱/۱۱ ترسیم شد.

نتایج

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر محیط (سطوح متفاوت آبیاری) برای همه ترکیبات پلی‌فنولیک (TPC، TFC، Cyd-3-glu) عصاره میوه انار و عملکرد میوه معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها برای صفات ذکر شده به‌استثناء محتوی فنل تام مشاهده شد. به‌طوری‌که اثر متقابل محیط با ژنوتیپ نیز برای صفات اندازه‌گیری شده (به‌استثناء محتوی فنل تام) معنی‌دار بود (جدول ۲).

MW: وزن مولکولی Cyd-3-glu ($449/2 \text{ g.mol}^{-1}$);
DF: فاکتور رقت؛ ε : ضریب خاموشی برابر ۲۶۹۰۰؛
 10^2 : فاکتور برای تبدیل گرم به میلی‌گرم و ۱: ارتفاع کریستال استفاده شده بر حسب سانتی‌متر می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش نرمال بودن داده‌ها براساس آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام گردید و در ادامه تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از رویه GLM و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال $P < 0.05$ با نرم‌افزار SAS انجام شد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) به‌منظور شناسایی روابط داخلی بین ژنوتیپ‌های

جدول ۲- تجزیه واریانس محتوی ترکیب‌های پلی فنولیک عصاره میوه و عملکرد میوه در ده ژنوتیپ بومی انار تحت سطوح آبیاری (نرمال، تنش ملایم و شدید)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		محتوی سیانیدین-۳-گلوکوزاید	محتوی فلاونوئید تام	محتوی فنل تام
عملکرد میوه				
بلوک	۲	۱/۵۸	۰/۸۸	۷۱۵/۱۱
محیط رطوبتی	۲	۴۷/۸۶**	۲/۰۷*	۲۸۱۸/۹۶**
خطای اصلی	۴	۰/۲۶	۰/۲۰	۶۳۷/۰۹ ns
ژنوتیپ	۹	۱۵۹/۳۱**	۲/۶۲**	۲۷۹/۰۶ns
ژنوتیپ × محیط رطوبتی	۱۸	۳۷/۸۷**	۳/۴۹**	۵۸۶/۳۲ns
خطای فرعی	۵۴	۲/۲۴	۰/۶۷	۳۹۱/۸۱
ضریب تغییرات (%)	-	۱۰/۱۵	۲۰/۱۵	۱۵/۳۹

ns: غیر معنی‌دار، * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

جدول ۳- میانگین محتوی ترکیب‌های پلی فنولیک عصاره میوه انار و عملکرد میوه ده ژنوتیپ بومی انار تحت سطوح آبیاری (شاهد، تنش ملایم و شدید)

سطوح آبیاری	محتوی سیانیدین-۳-گلوکوزاید (mg.100ml ⁻¹ J)	محتوی فلاونوئید تام (mgQUE.100 ml ⁻¹ J)	محتوی فنل تام (mgGAE.100 ml ⁻¹ J)	عملکرد میوه (kg.plant ⁻¹)
شاهد	۱۳/۶۰c	۳/۸۲b	۱۱۷/۹۰b	۳۱/۳۸a
تنش ملایم	۱۴/۵۵b	۴/۳۴a	۱۳۶/۸۶a	۲۸/۴۶b
تنش شدید	۱۶/۱۰a	۴/۱۰ab	۱۳۰/۹۰a	۲۰/۹۳c
LSD	۰/۷۵	۰/۴۱	۱۰/۴۴	۱/۴۰

در هر ستون میانگین‌های با حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

آبیاری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد که تنش شدید خشکی (FC ۳۵٪) در مقایسه با تنش ملایم (FC ۵۵٪) و شرایط کنترل شده (FC ۷۵٪) منجر به کاهش معنی‌داری در عملکرد میوه ارقام مورد مطالعه به ترتیب به میزان ۲۶/۴۵ و ۳۳/۳۰ درصد گردید (جدول ۳)؛ باوجود این تنش ملایم در مقایسه با شرایط کنترل شده منجر به کاهش ۹/۵۰ درصدی در عملکرد میوه شد ($P < 0.05$) (جدول ۳).

با توجه به معنی‌دار بودن اثر محیط بر صفات اندازه‌گیری شده، نتایج مقایسه میانگین صفات در هر سطح آبیاری نشان داد که اعمال تنش خشکی منجر به افزایش متابولیت‌های ثانویه گردید؛ به طوری که Cyd-3-glu ارقام مورد مطالعه در شرایط تنش ملایم و شدید به ترتیب ۶/۵۲ و ۱۵/۵۲ درصد افزایش یافت (جدول ۳). همچنین، میانگین TPC و TFC عصاره میوه انار به طور معنی‌داری در دو شرایط تنش آبیاری بیشتر از شرایط کنترل شده بود؛ باوجود این بین دو تیمار تنش

بین ژنوتیپ‌ها وجود داشت (جدول ۴). نکته قابل ذکر آن است که از بین متابولیت‌های ثانویه اندازه‌گیری شده، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه منبع غنی از ترکیب‌های فنلی بودند (جدول ۳)؛ باوجوداین براساس نتایج برش‌دهی تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر فنل تام وجود نداشت (جدول ۴).

با توجه به معنی‌داری اثر متقابل بین سطوح تنش و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، برش‌دهی در هر سطح تنش انجام شد. نتایج برش‌دهی اثر متقابل نشان داد که در هر سه سطح آبیاری، بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر Cyd-3-glu و عملکرد میوه تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.01$) (جدول ۴). از نظر TFC به‌استثنا تنش ملایم، در دو سطح نرمال و تنش شدید تفاوت معنی‌داری

جدول ۴- برش‌دهی اثر متقابل محیط × ژنوتیپ برای صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش و عدم تنش خشکی

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات	اثرهای متقابل
عملکرد میوه	محتوی فنل تام	محتوی فلاونوئید تام	سیانیدین-۳-گلوکوزاید			
۵۳۲/۹۷**	۶۰۸/۳۷ns	۱/۶۳*	۱۳/۲۶**	۹	شاهد	
۴۹۳/۷۱**	۶۳۸/۸۹ns	۰/۶۹ ns	۳۹/۳۵**	۹	تنش ملایم	محیط × ژنوتیپ
۲۹۱/۸۷**	۲۰۴/۴۴ns	۷/۲۸**	۱۸۲/۴۴**	۹	تنش شدید	

ns: غیر معنی‌دار، * و **: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

Cyd-3-glu همبستگی بالا و منفی داشت (جدول ۵). برای گروه‌بندی هیبریدها براساس دو مؤلفه اول و دوم، بای‌پلات ترسیم شد. براساس بای‌پلات ترسیم شده در حالت آبیاری نرمال، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به ۴ گروه تقسیم شدند: ژنوتیپ‌های گروه اول دارای عملکرد و TPC بالا (TT, PS, PSS)، ژنوتیپ‌های گروه دوم دارای Cyd-3-glu بالا با عملکرد متوسط (MTS, MSS, AT)، ژنوتیپ‌های گروه سوم دارای TFC بالا و کمترین عملکرد (PSBS) بودند و در نهایت ژنوتیپ‌های گروه چهارم (AMA, AS, PST) از نظر عملکرد و همه ترکیب‌های متابولیتی مورد مطالعه در وضعیت حدوسط قرار داشتند (شکل ۱).

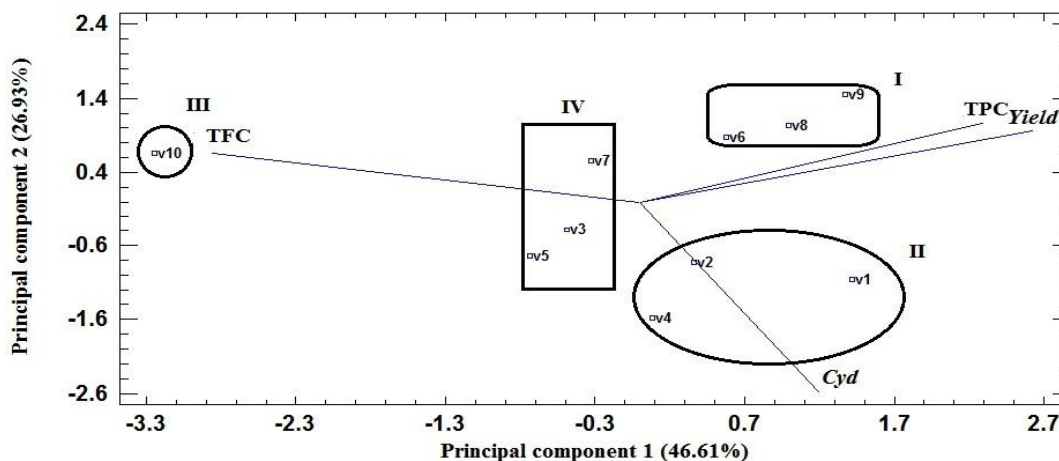
در ادامه با توجه به افت کمتر کاهش عملکرد میوه انار در تنش ملایم در مقایسه با تنش شدید، به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر روابط بین ژنوتیپ‌ها و همچنین روابط بین ژنوتیپ‌ها و صفات، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) در دو سطح نرمال و تنش ملایم انجام شد. نتایج نشان داد که در شرایط نرمال آبیاری و تنش ملایم دو مؤلفه اول بیش از ۷۳٪ و ۶۹٪ از واریانس کل را توجیه نمودند (جدول ۵). تحت تنش ملایم، مؤلفه اول (PC1) بیشترین همبستگی را با TPC (۰/۷۲) و مؤلفه دوم (PC2) بیشترین همبستگی را با دو صفت Cyd-3-glu (۰/۶۳) و TFC (-۰/۶۲) نشان داد. در حالت نرمال نیز مؤلفه اول بیشترین همبستگی را به ترتیب با TFC، عملکرد میوه و TPC نشان داد و مؤلفه دوم با

جدول ۵- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس دو مؤلفه اول و دوم برای صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش ملایم و شدید خشکی

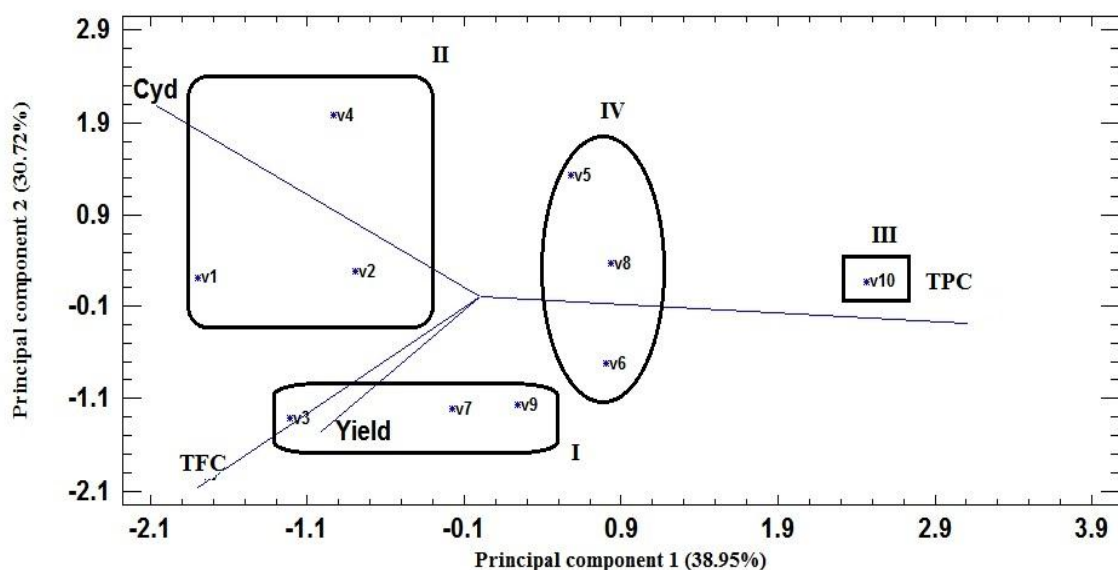
تنش شدید		تنش ملایم		صفات
مؤلفه دوم	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه اول	
-۰/۸۵	۰/۲۶	۰/۶۳	-۰/۴۸	محتوی سیانیدین-۳-گلوکوزاید
۰/۲۱	-۰/۶۱	-۰/۶۲	-۰/۴۲	محتوی فلاونوئید تام
۰/۳۵	۰/۴۹	-۰/۰۸	۰/۷۲	محتوی فنل تام
۰/۳۱	۰/۵۶	-۰/۴۴	-۰/۲۳	عملکرد میوه
۱/۰۷	۱/۸۶	۱/۲۲	۱/۵۵	مقدار ویژه
۲۶/۹۳	۴۶/۶۱	۳۰/۷۲	۳۸/۹۵	درصد واریانس
۷۳/۵۵	۴۶/۶۱	۶۹/۶۸	۳۸/۹۵	درصد تجمعی واریانس

و گروه سوم بیشترین TPC و کمترین عملکرد (PSBS) را به خود اختصاص دادند؛ در حالیکه ژنوتیپ‌های گروه چهارم (PST, AMA, AS) از نظر صفات مورد مطالعه در وضعیت حدوسط قرار داشتند (شکل ۲).

در وضعیت تنش ملایم ژنوتیپ‌ها براساس صفات مورد مطالعه ۴ گروه را تشکیل دادند: ژنوتیپ‌های گروه اول بیشترین عملکرد میوه و TFC (AMA, PST, TT)، گروه دوم بیشترین Cyd-3-glu و عملکرد متوسط (MTS, MSS, AT)



شکل ۱- بای پلات اولین و دومین مؤلفه‌های اصلی برای گروه‌بندی ۱۰ ژنوتیپ بومی انار ایرانی براساس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط نرمال آبیاری (۷۵٪ ظرفیت مزرعه)؛ V1 (MTS)، V2 (MSS)، V3 (AMA)، V4 (AT)، V5 (AS)، V6 (PSS)، V7 (PST)، V8 (PS)، V9 (TT)، V10 (PSBS)



شکل ۲- بای پلات اولین و دومین مؤلفه‌های اصلی برای گروه‌بندی ۱۰ ژنوتیپ بومی انار ایرانی براساس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش ملایم خشکی (۵۵٪ ظرفیت مزرعه): V1 (MTS)، V2 (MSS)، V3 (AMA)، V4 (AT)، V5 (AS)، V6 (PSS)، V7 (PSBS)، V8 (PST)، V9 (TT)، V10 (PSBS)

بحث

تنش خشکی در گیاه بومادران بیابانی به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش میزان ترکیب‌های فنولیک گردید. در واقع در شرایط تنش، تجمع رادیکال‌های آزاد در بخش‌های مختلف گیاه رخ داده و گیاه دچار صدمه می‌گردد؛ در چنین شرایطی یکی از سازوکارهای دفاعی گیاه، افزایش بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها به‌عنوان شناخته‌شده‌ترین مسیر در متابولیسم متابولیت‌های ثانویه و مشتق شده از مسیر سنتز فنیل پروپانویید است (Shih *et al.*, 2008).

نکته قابل توجه آن است که با افزایش شدت تنش از ملایم به شدید تفاوت معنی‌داری در میزان TPC و TFC مشاهده نگردد اما از نظر Cyd-3-glu تفاوت بین دو سطح تنش معنی‌دار بود. این امر می‌تواند بیانگر این واقعیت باشد که در گیاهان نیز قانون تعادل همواره وجود دارد و نمی‌توان انتظار داشت که با افزایش شدت تنش، سطح همه متابولیت‌های ثانویه به همان نسبت افزایش یابد. در واقع به‌منظور ایجاد ثبات و تعادل در اعمال سلول‌های گیاهی، در همه شرایط حتی شرایط تنش نیازی به افزایش بیان همه ژن‌های درگیر در سازوکار دفاعی نمی‌باشد. در توافق با

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که با وقوع تنش خشکی میزان کل ترکیب‌های پلی‌فنولیک مورد مطالعه (TFC, TPC, Cyd-3-glu) در ژنوتیپ‌های بومی انار ایرانی افزایش یافت؛ هرچند با افزایش شدت تنش خشکی از نظر محتوی فلاونوئید تام و فنل تام تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. در مطالعات انجام شده در سایر گیاهان دارویی، باغی و زراعی نیز گزارش‌هایی مبنی بر فعال شدن ژن‌های مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در شرایط تنش منتشر شده است؛ به‌طوری که Peterlunger و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه بر روی ژنوتیپ‌های انگور دریافتند که در تنش خشکی محتوای ترکیب‌های فنولیک گیاه انگور چندین برابر در مقایسه با شرایط عدم تنش افزایش داشته است. همچنین نتایج تحقیق Ma و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که محتوی فلاونوئید، فنل و آنتوسیانین کل در ژنوتیپ‌های گندم در تنش خشکی افزایش داشته است. Gharibi و همکاران (۲۰۱۲) نیز با بررسی ۴ تیمار مختلف خشکی بر روی گیاه بومادران بیابانی (*Achillea tenuifolia* Lam.) دریافتند که

شرایط نشان دادند. با وجود این بیشترین تغییرات مربوط به ژنوتیپ‌های گروه I و IV بوده است و این امر نشان‌دهنده اثرهای متقابل شدید این ژنوتیپ‌ها با محیط بوده است. بر این اساس انتخاب ژنوتیپ‌های گروه اول (AMA, PST,) به لحاظ عملکرد و TFC بالاتر و همچنین انتخاب ژنوتیپ‌های AT, MSS, MTS در گروه دوم به لحاظ داشتن عملکرد متوسط میوه و ترکیب Cyd-3-glu بالا از نظر دارویی و تجاری قابل تأمل است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی Cyd-3-glu، ترکیب‌های فلاونوئیدی و فنولی در بسیاری از گیاهان با خاصیت دارویی گزارش شده است (Karami et al., 2018; Finocchiaro et al., 2010)؛ به طوری که این خاصیت به ساختار فضایی خاص این ترکیب‌ها از جمله تعداد و محل گروه‌های هیدروکسی (OH) در حلقه B بستگی دارد. البته در مقایسه با ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی، آنتوسیانین‌ها به دلیل سطح بالاتری از هیدروکسیلاسیون از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار می‌باشند (Ma et al., 2014; Cheng & Breen, 2000).

در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه از نوع ترکیب‌های پلی‌فنولیک در عصاره میوه انار و کاهش عملکرد میوه گردید. بدین ترتیب براساس نتایج این تحقیق و به منظور جلوگیری از عوارض و آسیب‌های ناشی از تنش شدید خشکی، سطح آبیاری در وضعیت FC ۵۵٪ را می‌توان برای تولید و تجمع سطح قابل قبولی از محتوی ترکیب‌های پلی‌فنولیک به ویژه Cyd-3-glu و عملکرد میوه در ژنوتیپ‌های بومی انار ایرانی معرفی نمود. از سوی دیگر با توجه به نتایج برش‌دهی اثرهای متقابل و بای‌پلات ترسیم شده در شرایط عدم تنش و تنش ملایم، ژنوتیپ‌های AMA, PST, MTS و MSS به دلیل داشتن عملکرد میوه بالا و سطح بالایی از ترکیب‌های پلی‌فنولیک به منظور بهره‌برداری در صنایع غذایی و دارویی پیشنهاد می‌شوند.

یافته اخیر، نتایج Gharibi و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان داد که غلظت مالون دی‌آلدئید و پرولین نیز در تنش خشکی افزایش داشته است؛ با وجود این با شدید شدن تنش نوعی ثبات تدریجی در میزان این دو آنتی‌اکسیدان ملاحظه شد. علاوه بر اهمیت متابولیت‌های ثانویه از دیدگاه دارویی، عملکرد میوه در انار به عنوان اقتصادی‌ترین صفت در صنایع دارویی و همچنین صنایع غذایی قابل توجه می‌باشد. همانطور که نتایج نشان داد اعمال تنش منجر به کاهش در عملکرد میوه گردید که وقوع این امر در گیاهان کاملاً قابل قبول می‌باشد. در واقع در تنش خشکی به دلیل بسته شدن روزنه‌ها در طول تنش و تغییر کارآیی مصرف آب، ماده خشک تولیدی گیاه کاهش می‌یابد (Sarker et al., 2005). به منظور بررسی دقیق‌تر روابط بین محتوی ترکیب‌های پلی‌فنولیک اندازه‌گیری شده و ژنوتیپ‌ها در هر سطح آبیاری، برش‌دهی اثرهای متقابل و آنالیز PCA انجام شد و نتایج نشان داد که واکنش ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی متفاوت بود. این امر بیانگر این حقیقت است که در ژنوتیپ‌های مختلف به دلیل وجود درجات متفاوتی از مقاومت به خشکی، میزان تجمع ترکیب‌های فنولیک برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد متغیر است (Agati et al., 2012). همچنین با توجه به اُفت کمتر عملکرد میوه در تنش ملایم در مقایسه با تنش شدید و اهمیت این صفت به لحاظ اقتصادی در صنایع تبدیلی و دارویی، براساس نتایج بای‌پلات در سطح تنش ملایم، انتخاب ژنوتیپ‌هایی که همزمان از سطح قابل قبولی از عملکرد و ترکیب پلی‌فنولیک برخوردار باشند از لحاظ تجاری و همچنین دارویی اهمیت ویژه‌ای خواهد داشت. با وجود این براساس نتایج بای‌پلات، چنین استنباط می‌شود که جایگاه بیشتر ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد بررسی در شرایط آبیاری نرمال در مقایسه با تنش ملایم در مجموع تغییر فاحشی نداشته است. به عنوان مثال ژنوتیپ PSBS از کمترین عملکرد و بیشترین ترکیب TFC و TPC در هر دو شرایط نرمال و تنش ملایم برخوردار بوده است و ژنوتیپ‌های گروه II نیز موقعیت یکسانی را در هر دو

- application in beef meatballs. *Meat Science*, 69: 371-380.
- Finocchiaro, F., Ferrari, B. and Gianinetti, A., 2010. A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. *Journal of Cereal Science*, 51: 28-34.
 - Gharibi, S., Tabatabaei, S., Ebrahim, B., Saeidi, G., Goli, S.A.H. and Talebi, M., 2012. Effect of drought stress on some physiological properties and antioxidant activity of *Achillea tenuifolia* Lam. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)*, 3: 181-190.
 - Gil, M.I., Tomas-Barbern, F.A., Hess-Pierce, B., Holcrofi, D.M. and Kader, A.A., 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 45-81.
 - Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E., 2001. Unit F1.2. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 0(1): F1.2.1-13.
 - Hatamnia, A.A., Abbaspour, N. and Darvishzadeh, R., 2014. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. *Food Chemistry*, 145: 306-311.
 - Johanningsmeier, S.D. and Harris, G.K., 2011. Pomegranate as a functional food and nutraceutical source. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2: 181-200.
 - Karami, S., Sabzalian, M.R. and Rahimmalek, M., 2018. Seed polyphenolic profile, antioxidative activity and fatty acids composition of wild and cultivated *Carthamus* species. *Chemistry & Biodiversity*, 15(6): e1700562.
 - Lee, S.I., Kim, B.S., Kim, K.S., Lee, S., Shin, K.S. and Lim, J.S., 2008. Immune-suppressive activity of punicalagin via inhibition of NFAT activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371(4): 799-803.
 - Ma, D., Sun, D., Wang, C., Li, Y. and Guo, T., 2014. Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80: 60-66.
 - Myung, J.E. and Hwang, I.K., 2008. Functional components and antioxidative activities of soybean extracts. *Korean Soybean Digest*, 25: 23-29.
 - Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M. and Shafagh, B., 2006. Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian *Achillea* species. *Pharmaceutical Biology*, 44: 208-212.
- ### منابع مورد استفاده
- Abdel-Aal, E.S.M., Young, J.C. and Rabalski, I., 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 54: 696-704.
 - Afaq, F., Saleem, M., Krueger, C.G., Reed, J.D. and Mukhtar, H., 2005. Anthocyanin-and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- κ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *International Journal of Cancer*, 113: 423-433.
 - Agati, G., Azzarellob, E., Pollastri, S. and Tattini, M., 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196: 67-76.
 - Akhavan, H., Barzegar, M., Weidlich, H. and Zimmermann, B.F., 2015. Phenolic compounds and antioxidant activity of juices from ten Iranian pomegranate cultivars depend on extraction. *Journal of Chemistry*, 2015: 1-7.
 - Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. and Smith, M., 1998. FAO Irrigation and drainage paper No. 56. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 56: e156.
 - Asada, K., 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 355(1402): 1419-1431.
 - Castellarin, S.D., Matthews, M.A., Gaspero, G.D. and Gambetta, G.A., 2007. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*, 227: 101-112.
 - Cheng, I.E. and Breen, K., 2000. The ability of four flavonoids, baicalein, luteolin, naringenin, and quercetin, to suppress the fenton reaction of the iron-atp complex. *Biometals*, 13: 77-83.
 - Das, A.K., Mandal, S.K., Banerjee, S., Sinha, J., Das, B.P. and Pal, M., 1999. Studies on antidiarrhoeal activity of *Punica granatum* seed extract in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 68: 205-208.
 - Duman, A.D., Ozgen, M., Dayisoylu, K.S., Erbil, N. and Durgac, C., 2009. Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules*, 14: 1808-1817.
 - Dutta, B.K., Rahman, I. and Das, T.K., 1998. Antifungal activity of Indian plant extracts. *Mycoses*, 41: 535-536.
 - Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A. and Kuri, V., 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts:

- genes in rice flavonoid biosynthesis. *Planta*, 228: 1043-1054.
- Siegelman, H.W. and Hendricks, S.B., 1958. Photocontrol of Anthocyanin Synthesis in Apple Skin. *Plant Physiol*, 33: 185-90.
 - Thresiamma, K.C. and Kuttan, R., 1996. Inhibition of liver fibrosis by ellagic acid. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 40: 363-366.
 - Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A., 2017. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chemistry*, 220: 153-161.
 - Wahid, A. and Ghazanfar, A., 2006. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *Journal of Plant Physiology*, 163: 723-730.
 - Wang, H., Cao, G. and Prior, R.L., 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 45: 304-309.
 - Whitley, A.C., Stoner, G.D., Darby, M.V. and Walle, T., 2003. Intestinal epithelial cell accumulation of the cancer preventive polyphenol ellagic acid-extensive binding to protein and DNA. *Biochemical Pharmacology*, 15: 907-915.
 - Nicola, I.M., Pereira, P., Vitor, R.F., Reis, C.P., Roberto, A. and Rijo, P., 2016. Antioxidant activity and rosmarinic acid content of ultrasound-assisted ethanolic extracts of medicinal plants. *Measurement*, 89: 328-332.
 - Perez-Vicente, A., Gil-Izquierdo, A. and Garcia-Viguera, C., 2002. In vitro gastrointestinal study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins and vitamin C. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 50: 2308-2310.
 - Peterlunger, E., Siviloti, P. and Colussi, V., 2005. Water stress and polyphenolic quality in 'Merlot' grapes. *Acta horticulturae*, 689: 293-300.
 - Prashanth, D.J., Asha, M.K. and Amit, A., 2001. Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*, 72: 171-173.
 - Sarker, B.C., Hara, M. and Uemura, M., 2005. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. *Scientia Horticulturae*, 103: 387-402.
 - Seeram, N., Schulman, R.N. and Heber, D., 2006. *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*. CRC Press, Boca Raton, 262p.
 - Shih, C.H., Chu, H., Tang, L.K., Sakamoto, W., Maekawa, M., Chu, I.K., Wang, M.F. and Lo, C., 2008. Functional characterization of key structural

Effects of drought stress on the phenol, flavonoid and cyanidin 3-glycoside content of juice and fruit yield in native pomegranate genotypes (*Punica granatum* L.)

S. Faraji¹, M. Hadadinejad^{2*}, V. Abdoosi³, T. Basaki⁴ and S. Karami⁴

1- Ph.D. student, Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticultural Sciences, Research Institute of Medicinal Plants Biotechnologies (RIMPBio) Sari Agricultural sciences and Natural Resources University (SANRU) Sari, Iran
E-mail: m.hadadinejad@sanru.ac.ir

3- Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

Received: October 2018

Revised: September 2019

Accepted: September 2019

Abstract

In order to study the effects of drought stress on polyphenolic compounds of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) (total phenol, total flavonoid and cyanidin 3-glycoside content) as well as fruit yield, an experiment was carried out as split plot based on a randomized complete block design with three replications (irrigation levels in main plots and pomegranate genotypes in subplots). Results showed that drought stress increased the content of juice polyphenolic compounds ($P < 0.05$) and decreased fruit yield ($P < 0.05$) in comparison with non-stress conditions ($75 \pm 5\%$ FC). However, mild stress ($55 \pm 5\%$ FC) caused a lower yield loss ($P < 0.05$) compared to severe stress ($35 \pm 5\%$ FC). The results also showed that the genotypes studied could be considered as a rich source of phenolic compounds; however, the highest difference among the genotypes was found for cyanidin 3-glycoside content at different irrigation levels. On the other hand, based on the principal component analysis, under non-stress and mild stress conditions, genotypes Agha Mohamad Ali (AMA), Pust Sefid Torsh (PST), Malas Torsh Saveh (MTS), and Malas Shirine Saveh (MSS) could be recommended in food and pharmaceutical industries as superior and natural antioxidant-rich genotypes due to the high fruit yield and polyphenolic compounds. Generally, because of the importance of yield potential under drought stress, the mild drought stress treatment ($55 \pm 5\%$ FC) could be introduced as the optimum condition to obtain acceptable level of secondary metabolites, particularly cyanidin 3-glycoside, and fruit yield in Saveh region.

Keywords: Water stress, polyphenolic compounds, pomegranate (*Punica granatum* L.), yield.