

ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی دو رقم توت فرنگی پاروس و

کویین الیزا تحت شرایط کم‌آبیاری

Evaluation of Biochemical and Antioxidant Changes of Two Strawberries (Paros and Queen Eliza) Cultivars under Deficit Irrigation Conditions

محمد سرسیفی^۱، علی سلیمانی^{۱*}، ناصر قادری^۲، اسماعیل امیری^۱

۱. گروه علوم باغبانی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲. گروه علوم باغبانی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (asoleimani@znu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۸

چکیده

در این پژوهش تاثیر تیمار کم‌آبیاری و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی میوه و برگ گیاه توت‌فرنگی (*Fragaria x ananassa* Dusch.) ارقام پاروس (Paros) و کویین الیزا (Queen Eliza) در دو سال متوالی (۱۳۹۹-۱۳۹۸) در فصول مختلف رشدی بهار، تابستان و پاییز مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی، با سه سطح آبیاری (۰، ۳۰ و ۶۵ درصد تخلیه رطوبتی خاک) در سیستم کاشت پشته‌ای دوردیفه و آبیاری قطره‌ای در بستر خاکی، در فضای باز ایستگاه تحقیقات کشاورزی گریزه شهرستان سنندج، به‌اجرا درآمد. بر اساس مقایسه میانگین‌ها: کم‌ترین مقدار آسکوربات (۴۴/۸) و بیش‌ترین مقدار آن (۷۳/۵) (بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک)، به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار ۶۵ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد. در روندی مشابه، مقدار گلوکاتایون (بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک) در تیمار ۶۵ درصد تخلیه رطوبتی حدود ۷۴ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان داد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محتوای آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونالیاز با افزایش شدت تنش کم‌آبیاری در برگ توت‌فرنگی به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوریکه بیش‌ترین مقدار آنزیم‌های PAL و PPO به ترتیب ۴۳/۳ و ۵۸/۰ (واحد پروتئین بر میلی گرم) در تیمار ۶۵ درصد تخلیه رطوبتی و در تابستان مشاهده شدند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار فنل کل و فلاونوئید کل با بالا رفتن شدت تنش کم‌آبیاری روند افزایشی داشتند به‌طوری‌که در تنش کم‌آبیاری شدید مقدار این صفات به ترتیب ۳۵، ۴۸ و ۹۲ درصد در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کردند. برهمکنش رقم و سال بر محتوای آنزیم فنیل آلانین آمونالیاز و فنولیک اسید، به‌خصوص در فصول تابستان و پاییز، معنی‌دار شد. آزمون مقایسه میانگین‌ها بیش‌ترین مقدار این صفات در رقم کویین الیزا را به ترتیب (۴۱/۶۷) واحد در میلی گرم پروتئین و (۴/۸۰) میلی گرم در گرم تر نشان دادند. به‌طور کلی در تنش ملایم کم‌آبیاری، شاخص‌های بیوشیمیایی میوه حفظ و بهبود پیدا کردند. همچنین تغییر صفات در برگ و میوه نشان داد که در مقایسه بین دو رقم، "کویین الیزا" از تحمل بالاتری برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: توت‌فرنگی، صفات آنتی‌اکسیدانی، پلی‌فنل‌ها، پرولین، تنش خشکی.

مقدمه

در سال‌های اخیر کمبود منابع آب از مهم‌ترین دغدغه‌های بخش کشاورزی ایران بوده است. پیامدهای تغییر اقلیم و شیب کاهنده بارش‌ها از سویی و گرم شدن هوا از سوی دیگر و هم‌زمانی تقاضای جمعیت برای تولید مواد غذایی تا حدودی اوضاع را بحرانی‌تر نموده است. در چنین شرایطی مطالعه در زمینه بهره‌وری آب، بسیار ضروری و در اولویت فعالیت‌های بخش کشاورزی است (Ebrahimie et al., 2003). به موازات نقش تکنولوژی در بهینه کردن مصرف آب، کم‌آبیاری تنظیم شده و مصرف آب

متناسب با مراحل فنولوژی گیاه می‌تواند به‌عنوان یک روش جایگزین مناسب در نظر گرفته شود. تنظیم آبیاری مزارع و باغ‌ها، منطبق با نیاز گیاه در مراحل مختلف رشد، راهکاری اساسی در کاهش مصرف آب است. در شرایط کم‌آبی و با تخلیه رطوبتی خاک در اثر تبخیر و تعرق، پتانسیل مکش خاک منفی شده و ریشه در جذب آب ناتوان می‌ماند و در صورت تداوم این شرایط تنش خشکی اتفاق می‌افتد (Li & Wang, 2023). پاسخ اولیه بعضی گیاهان به تنش خشکی کاهش سطح برگ است، برگ‌های باقی مانده گیاهان مقاوم تا زمانی که به شدت تحت استرس قرار نگیرند عملکرد فیزیولوژیکی نسبتاً خوبی دارند. ریزش برگ یکی دیگر از واکنش‌های گیاه در شرایط کم‌آبی است. با این مکانیزم سطح تبخیر و تعرق در برگ‌های گیاه کاهش می‌یابد و نوعی فرار از خشکی در گونه‌های گیاهی چندساله اتفاق می‌افتد (Li et al., 2014). در اقلیم مدیترانه، خشکی یکی از مهمترین پیامدهای تغییرات اقلیمی است که راندمان رشد و عملکرد گیاهان را کاهش داده و اکثر گیاهان عالی مکانیسم‌هایی برای تحمل تنش آبی و همچنین توانایی‌هایی برای افزایش کارایی مصرف آب خود کسب کرده‌اند (Ghaderi & Siosemardeh, 2013).

توت‌فرنگی با نام علمی *Fragaria x ananassa* Dusch یکی از محصولات مهم گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در کشور است. ایران با تولید ۱۰۷ تن توت‌فرنگی و سطح زیرکشت گلخانه‌ای (۳۸۰ هکتار) و مزرعه‌ای (۶۲۸۵ هکتار)، در لیست کشورهای مهم تولیدکننده توت‌فرنگی در جهان قرار دارد (بی‌نام، ۱۴۰۲). این گیاه در زمرة گیاهان با نیازمندی بالا به آب طبقه‌بندی شده و میزان آب و مدیریت آبیاری در تولید محصول نقش مهمی دارند. نیاز توت‌فرنگی به آب زیاد است زیرا گیاهان دارای سیستم ریشه زایی کم عمق، سطح برگ زیاد و محتوای آب میوه زیاد هستند (Ariza et al., 2021). در شرایط مزرعه، تنش کم‌آبی در تابستان، به علت گرما و نور آفتاب زیاد، می‌تواند در رشد توت‌فرنگی اختلال ایجاد کرده و مقدار تولید را به‌شدت تحت تاثیر قرار دهد (Liu et al., 2007). توت‌فرنگی به‌دلیل داشتن ریشه‌های سطحی و کم‌عمق، سطح برگ زیاد و میوه آب‌دار، به حجم بالایی از آب در طول دوره رشد نیاز دارد تا بتواند محصول کافی و با کیفیت قابل قبول تولید کند (Şener et al., 2023). پاسخ ارقام مختلف توت‌فرنگی به تنش خشکی متفاوت بوده است. برای مثال، مقایسه تاثیر تنش خشکی بر رشد و عملکرد سه رقم توت‌فرنگی نشان داد که با کم‌شدن محتوای آب خاک، رقم کاماروسا و مراک ثبات بیشتری در مقابل تغییرات فتوسنتز و رشد در مقایسه با رقم گاوپوتا داشتند (Ghaderi & Siosemardeh, 2013). میزان تنظیم اسمزی، گستردگی سطح برگ و مقدار تعرق از شاخص‌های مورد توجه جهت انتخاب ارقام مختلف توت‌فرنگی از نظر تحمل به تنش خشکی می‌باشند (Grant et al., 2010). بنابراین شناخت واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه در مقابل تیمارهای مختلف کم‌آبیاری و مقدار آبی که در دسترس گیاه قرار می‌گیرد، و مکانیزم‌های متفاوتی که جهت مقابله با تنش از خود نشان می‌دهند، حائز اهمیت می‌باشد. هدف از مطالعه انجام‌شده، واکنش گیاه به تنش کم‌آبیاری در مراحل مختلف رشد در دو رقم مهم و تجاری توت‌فرنگی بر اساس شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بود.

مواد و روش‌ها

مکان، زمان و نوع طرح آزمایشی

این پژوهش در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی گریزه، در مختصات جغرافیایی یوتی‌ام شرقی ۶۸۴۵۱۷ و شمالی ۳۹۰۵۰۵۳ (UTM; Universal Transverse Mercator) متعلق به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان واقع در شهر سنندج انجام گرفت. آمار هواشناسی چهل‌ساله منطقه، حداقل مطلق منفی ۳۱ و حداکثر مطلق مثبت ۴۴ درجه سانتیگراد را نشان می‌دهد. متوسط بارندگی استان ۴۵۰ میلی‌متر است که در مقایسه با متوسط بارندگی ایران (۲۵۰ میلی‌متر) در شرایط بهتر و در مقایسه با متوسط بارندگی جهان (۹۰۰ میلی‌متر) در شرایط نامساعدتری قرار دارد. در سیستم کاشت جوی‌پشته دوردیفه در بستر خاک با بافت رسی‌شنی، تحت آبیاری قطره‌ای سطحی از منبع چاه‌های ایستگاه که از آب رودخانه فصلی تغذیه می‌شدند. نشاهای دو رقم تجاری توت‌فرنگی (کوئین‌الیزا با منشأ آمریکایی و پاروس با منشأ ایتالیایی) از منشا بوته‌های دختر ریشه‌دار کلکسیون توت‌فرنگی، کاشته شدند. این ارقام روز کوتاه بوده و از ارقام سفت‌میوه با عملکرد بالا بوده که در دوده‌های اخیر معرفی شده‌اند (Ranjbar et al., 2014). آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح آبیاری براساس درصدهای مختلف تخلیه رطوبتی خاک شامل ۰، ۳۰ و ۶۵ (به ترتیب I₁، I₂ و I₃) به‌عنوان عامل اصلی و ارقام توت‌فرنگی کوئین‌الیزا و پاروس به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. در

این آزمایش عرض پشته و فاصله بین پشته‌ها هر کدام ۸۰ سانتی‌متر، تراکم بوته در روی پشته ۲۵×۴۰ سانتی‌متر بود و در هر کرت آزمایشی تعداد ۳۰ نشاء کاشته شد. مبارزه با علف‌هرز به‌صورت مکانیکی و میزان مصرف کودکامل آلی و شیمیایی بر اساس آزمون خاک (مقدار سه کیلوگرم کود پوسیده حیوانی در مترمربع و کودهای شیمیایی به‌نسبت پتاس (۱۶/۶ درصد)، فسفر (۸/۷ درصد) و ازت (۲۰ درصد) به‌صورت مصرف خاکی و کود میکرو کامل در غلظت ۲.۵ در هزار در پانزدهم ماه‌های اردیبهشت، خرداد و شهریور و کود کلسیم-بور با غلظت ۳ در هزار در اواخر خرداد و نیمه مرداد به‌صورت محلول‌پاشی انجام شد. اجرای آزمایش در طی دو سال (Y1 و Y2) در یک مزرعه صورت گرفت. نمونه‌برداری جهت ثبت متغیرهای مورد بررسی در سه مرحله مختلف رویش بهار، (گل‌دهی و میوه‌دهی) در اواخر اردیبهشت (T₁)، رویش تابستانه (تولید ساقه‌های رونده) در اواخر مرداد (T₂) و رویش پاییزه (آغاز رکود و گل‌انگیزی)، در اواخر مهر (T₃) صورت گرفت. داده‌های هر مرحله به‌صورت جداگانه مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

ارزیابی صفات

در فصل بهار و در زمان رسیدن میوه‌ها (رنگ‌گیری ۷۰ درصد از بلافت ظاهری میوه)، به‌هنگام صبح و از میوه‌های برداشت‌شده سری دوم گل‌آذین توت‌فرنگی، نمونه میوه تهیه شد. ارزیابی خصوصیات کیفی میوه توت‌فرنگی با روش تهیه عصاره فریزشده در منفی ۷۰ درجه سلسیوس در دو سال پیایی انجام شد. از خصوصیات کیفی میوه‌های برداشت شده، مقدار مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، محتوای ویتامین سی، میزان آنتوسیانین کل، محتوای فنل کل، مقدار فلاونوئید کل و ظرفیت ضد اکسایشی اندازه‌گیری شدند. مواد جامد محلول به‌وسیله رفاکٲومتر دیجیتالی مدل (A. PAL-1)، اسیدیته قابل تیتراسیون (به‌روش هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال و فنل فتالئین ۱ درصد)، (Iranzo et al., 1984)، محتوای ویتامین ث به‌روش تیتراسیون (Bor et al., 2006)، میزان آنتوسیانین کل در عصاره به‌روش تفاوت pH (Wagner, 1979) و محتوای فنل کل به‌روش فولین-سیوکالتیو در طول موج ۶۵۰ نانومتر تعیین شد (The Folin-Ciocalteu reagent) (Sharma et al., 2001). مقدار فلاونوئید کل به‌روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم در طول موج ۵۰۷ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری انجام شد (colorimetric) (Kaijv et al., 2006). ظرفیت ضد اکسایشی به‌روش رادیکال پایدار دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) و قرائت در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر انجام شد (Ebrahimzadeh et al., 2010). ارزیابی صفات بیوشیمیایی در برگ به‌روش نمونه‌برداری برگ در سه‌زمان و تهیه نمونه فریزشده در منفی ۷۰ درجه انجام شد. اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌لددید (Bandeoglu et al., 2004)، کربوهیدرات‌های محلول کل (Ghorbani et al., 2009)، میزان پراکسید هیدروژن (Sharova et al., 2023)، پرولین (Ahmadi & Siosemardeh, 2004) و غلظت پروتئین‌های محلول (Bradford, 1976)، مقادیر آسکروبات کل (Gillespie & Ainsworth, 2007) و گلوکاتیون احیا (Salbitani et al., 2017) و آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز (Medda et al., 2020) و فنیل‌آلانین آمونالیز (D'Cunha et al., 1996) در نمونه‌های برگ اندازه‌گیری شدند.

روش تهیه اسیدیته قابل تیتراسیون

برای اندازه‌گیری اسیدهای آلی ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره میوه را توسط پیپت داخل ظرف شیشه‌ای ریخته و به آن ۲۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. داخل محلول فوق ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالئین ۱ درصد اضافه و سپس عمل سنجش حجمی (تیتراسیون) توسط هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال انجام شد هنگامی که رنگ محلول حاوی عصاره میوه به‌رنگ قرمز روشن تبدیل شد عمل تیتراسیون خاتمه می‌یابد. برای تهیه محلول فنل فتالئین ۱ درصد مقدار ۱ گرم از پودر آن را در اتانول ۹۰ درصد حل کرده و حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. براساس مقدار هیدروکسید سدیم مصرف شده در عمل تیتراسیون، مقدار اسید در عصاره میوه به‌صورت درصد یا گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره میوه محاسبه گردید (Iranzo et al., 1984).

$$A = \frac{(S \times N \times F \times E)}{C} \times 100$$

معادله مورد استفاده:

در این معادله: A = مقدار اسید در عصاره میوه (گرم در صد میلی‌لیتر). S = مقدار سود مصرف شده (میلی‌لیتر). N = نرمالیه (NaOH). F = فاکتور (NaOH). C = مقدار عصاره میوه (میلی‌لیتر). E = اکی‌والان اسید.

میزان اسید آسکوربیک

ویتامین ث یا ال آسکوربات از ویتامین‌های محلول در آب محسوب می‌شود. به این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از آب‌میوه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید متافسفریک ۱ درصد مخلوط شد، سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول حاصل با ۹ میلی‌لیتر ۶ و ۲ دی کلرو ایندوفنول ۵۰ میکرومولار برای چند ثانیه با همزن انگشتی تکان داده شد. میزان جذب نمونه در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T60 UV visible اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان ویتامین ث نمونه‌ها از منحنی استاندارد اسید آسکوربیک استفاده شد (Bor et al., 2006).

روش اندازه‌گیری آنتوسیانین کل

برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین در تیمارهای مختلف از روش اختلاف pH استفاده شد. ابتدا دو نمونه بافر با استفاده از محلول‌های کلریدپتاسیم (pH=1 و 0.025M) و استات‌سدیم (pH=4.5 و 0.4M) تهیه شد. میزان ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۳/۶ میلی‌لیتر از بافرها به‌طور جداگانه مخلوط شد و سپس میزان جذب هر دو نمونه تهیه شده در طول موج‌های ۷۰۰ و ۵۱۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر T60 UV visible اندازه‌گیری گردید. میزان آنتوسیانین توسط فرمول زیر محاسبه شد و به‌صورت میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلوکوزاید در ۱۰۰ میلی‌گرم آب‌میوه گزارش شد (Wagner, 1979).

رابطه مورد استفاده:
$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}$$

$$\text{Total Anthocyanin} = A \times 449.2 \times DF \times 1000 / 26900$$
 در این فرمول ۴۴۹/۲ جرم مولکولی سیانیدین-۳-گلوکوزاید، ۲۶۹۰۰ جذب مولی آن در pH=1 و DF فاکتور رقیق سازی است.

روش اندازه‌گیری فنول کل

از روش فولین-سیوکالتیو میزان فنول کل اندازه‌گیری شد. ۲۰ میکرولیتر آب‌میوه با ۱۸۰ میکرولیتر از محلول ۵۰ درصد فولین-سیوکالتیو و ۹۰۰ میکرولیتر سدیم‌کربنات ۲ درصد مخلوط گردید. مخلوط به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. جذب مخلوط واکنش در طول موج ۶۵۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T60 UV Visible اندازه‌گیری گردید. سپس منحنی استاندارد فنول با استفاده از غلظت‌های مختلف گالیک‌اسید رسم شد و میزان فنول نمونه‌ها به‌صورت میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه گزارش شد (Sharma et al., 2001).

روش اندازه‌گیری فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل با روش رنگ‌سنجی مورد ارزیابی قرار گرفت و جذب محلول توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۷ نانومتر خوانده شد (Kaijv et al., 2006).

روش اندازه‌گیری ظرفیت ضد اکسایشی

ظرفیت ضد اکسایشی (آنتی‌اکسیدانی) عصاره میوه‌ها از طریق ویژگی خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد (۱) و ۱-دی فنیل ۲-پیکریل هیدرازیل) تعیین گردید. ۲۲ میکرولیتر از عصاره آب‌میوه به ۲۰۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار اضافه شد. مخلوط پس از افزودن DPPH به‌سرعت به‌هم زده شد، سپس در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی تا رسیدن محلول به‌حالت یکنواخت نگهداری شد. کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T60 UV visible تعیین شد. از محلول تریس به‌عنوان (Blank) استفاده گردید. سپس ظرفیت ضد اکسایشی عصاره‌ها به‌صورت درصد بازدارندگی DPPH محاسبه گردید (Ebrahimzadeh et al, 2010).

رابطه مورد استفاده:
$$\text{DPPHSC}(\%) = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

A sample: عدد قرائت شده نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، A control: میزان جذب (۱ میلی‌لیتر تریس + ۱ میلی‌لیتر DPPH)

روش اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر و ضریب خاموشی دستگاه ($1.56 \times 10^5 \text{ L/cm.mmol}$) اندازه‌گیری و غلظت (MDA) محاسبه شد. ۱۵۰ میلی‌گرم بافت تهیه شده در بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار هموژن شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی به‌لوله درب‌دار منتقل و به آن ۲ میلی‌لیتر از معرف (TBA; Thiobarbituric acid) اضافه و ور تکس شد. سپس درب لوله بسته و به‌مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده شد. لوله‌ها پس از سرد شدن در دمای اتاق، به‌مدت ۱۰ دقیقه با قدرت ۳۰۰۰ گرم سانتریفوژ شدند. جذب محلول رویی در مقابل بلانک (غلظت صفر استاندارد) در طول موج ۵۳۵

نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خولنده شد و غلظت (MDA) با استفاده از ضریب خاموشی آن محاسبه شد (Bandeoglu *et al.*, 2004).

کربوهیدرات‌های محلول کل

مقدار ۰/۱ گرم از نمونه خشک‌شده برگ که کاملاً پودر شده در ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد ریخته و بعد از ۲۰ ثانیه ورتکس، با کاغذ صافی صاف شد و در آن با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا اتانول تبخیر شد به‌منظور حفظ رسوبات اضافی و ترکیبات دیگر مقدار ۵ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد سولفات روی و ۴/۷ میلی‌لیتر محلول هیدروکسیدباریم ۰/۳ نرمال اضافه گردید و بعد از سانتریفیوژ، به‌میزان ۲ میلی‌لیتر از عصاره شناور ۱ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد فنل اضافه شد و بعد از آنکه خوب به‌هم زده شد به‌آن ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و بعد از ۴۵ دقیقه جذب نور با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-VIS) در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد (Ghorbani *et al.*, 2009).

روش اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن ۰/۵ گرم نمونه برگی در ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک‌اسید (وزنی-حجمی) همگن شده و در ۱۲۰۰۰ گرم به مدت ۳۲ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس کمپلکس واکنش با ترکیب ۰/۵ میلی‌لیتر رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) و ۱ میلی‌لیتر یدیدپتاسیم ۱ مولار بدست آمد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد به‌دست آمد (Sharova *et al.*, 2023).

روش اندازه‌گیری پرولین

برای اندازه‌گیری مقدار پرولین آزاد ۰/۰۱ گرم بافت تر برگ را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالسیک سائیده و مخلوط یکنواختی تهیه گردید مخلوط حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در این روش از معرف نین‌هیدرین استفاده شد. میزان جذب فاز رنگی محلول فوق که حاوی تولون و پرولین است در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد و برحسب میلی‌مول در گرم وزن تازه نمونه، تعیین شد (Ahmadi & Siosemardeh, 2004).

روش اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول کل

عصاره پروتئینی در بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و (pH = 6.8) استخراج و به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول رویی حاصل برای سنجش پروتئین کل با روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976).

روش تهیه آسکوربات کل

یک گرم نمونه برگ (۲۰ میلی‌گرم از محلول استخراج‌کننده به ازای ۱ گرم از نمونه برگ) توسط محلول ۵ درصد اسید متافسفیک در هاون چینی به‌طور کامل خرد گردید. سپس نمونه حاصله را به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و محلول شفاف تهیه شده جهت اندازه‌گیری آسکوربات به‌کار برده شد. سپس ۴ میلی‌لیتر از محلول سانتریفیوژ شده و نیم میلی‌لیتر از محلول دی‌کلرو ایندوفنل (DCIP) سه میلی‌مولار، اضافه گردید تا اسید آسکوربیک را به اسید دی‌هیدروآسکوربیک اکسید کند. سپس محلول شاهد با استفاده از ۱ میلی‌لیتر اسید متافسفیک ۵ درصد و افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر، محلول دی‌کلرو ایندوفنل سه میلی‌مولار، آماده گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر تیواوره ۱ درصد اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه ساکن ماندند. سپس ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲۰ درصد فقط به‌محلول شاهد اضافه شد. اما به‌نمونه، ۱ میلی‌لیتر محلول ۲ و ۴ دی‌نیترو فنیل هیدرازین (DNPH) ۱۰ میلی‌مولار، اضافه گردید تا مشتق ۲ و ۴ دی‌نیترو فنیل هیدرازین از اسید دی‌هیدروآسکوربیک تشکیل شود. سپس لوله‌ها به‌مدت یک ساعت در حمام آب ۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند، سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام یخ قرار گرفته و در حمام یخ به‌تدریج اسید سولفوریک ۸۵ درصد به‌نمونه‌ها اضافه شد و لوله‌ها ۳۰ دقیقه دیگر در حمام یخ ماندند. سپس ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲۰ درصد به‌لوله نمونه و ۱ میلی‌لیتر ۲ و ۴ دی‌نیترو فنیل هیدرازین ۱۰ میلی‌مولار، به‌لوله شاهد اضافه گردید. سپس مقدار جذب در مقایسه با شاهد

آماده شده، در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS اندازه گیری شد. نکته مهم اینکه مدت زمان پایداری کمپلکس های حاصله یک ساعت است، لذا اندازه گیری ها در مدت زمان یک ساعت انجام شد (Gillespie & Ainsworth, 2007).

روش اندازه گیری گلو تاتیون احیا (GSH)

در این روش، به ۲۰۰ میلی گرم بافت، ۸ میلی لیتر EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) ۰/۰۲ مولار اضافه و هموژن شد. سپس، به ۵ میلی لیتر از هموژنات ۴ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر محلول (TCA) ۵۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه ورتکس شد. در مرحله بعدی، برای رسوب کامل پروتئین های بافتی مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ شد. ۲ میلی لیتر از محلول رویی با ۴ میلی لیتر بافر تریس حاوی EDTA) ۰/۲ مولار و ۰/۱ میلی لیتر محلول (DTNB) ۰/۰۱ مولار در متانول مخلوط و بلافاصله جذب آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۲ نانومتر قرائت شد (Salbitani et al., 2017).

روش اندازه گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO)

در این روش از پیروگالل به عنوان پیش ماده آنزیم استفاده شد. در این واکنش مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار در (pH=7)، ۲۰۰ میکرو لیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر و بعد از ۳ دقیقه خوانده شد. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل mM-1 Cm-1 2/6 بود (Medda et al., 2020).

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز (PAL)

یک میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7)، ۰/۵ میلی لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی مولار، ۰/۴ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط شدند و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر کلریدریک اسید ۶ مولار متوقف شد و جذب نمونه ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه گیری گردید. برای محاسبه سینامیک اسید تولید شده از منحنی استاندارد سینامیک اسید استفاده شد (D'Cunha et al., 1996).

واکاوی داده ها

تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار آماری سس (SAS_{9.1}; Statistical Analysis System)، به صورت کرت های خرد شده انجام شد و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون آماری حداقل اختلاف معنی دار (LSD; Least Significant Difference)، صورت گرفت.

نحوه محاسبه تیمارهای تخلیه رطوبت

نقطه ظرفیت نگهداری آب مزرعه (IFC; Irrigation Field Capacity)، در محدوده خاک کرت های آزمایشی مورد استفاده، مقدار ۰/۲۸ رطوبت حجمی خاک محاسبه شد و نقطه پژمردگی در مزرعه (PWP; Permanent Wilting Point)، در همان محدوده ۰/۱۳ رطوبت حجمی خاک بدست آمد. در فاصله بین این دو نقطه، یعنی در محدوده ۲۸-۱۳ درصد رطوبت حجمی خاک، تنش مورد نظر اعمال شد. براین اساس در نقطه شاهد یا صفر، رطوبت حجمی ۰/۱۵ را برای خاک تامین و به آستانه ۰/۲۸ رطوبت حجمی خاک یا همان ظرفیت نگهداری خاک، رسانده شد. برای این منظور اگر حجم خاک هر تیمار در طول، عرض و عمق خاک بر حسب متر (۰/۴۵ = ۰/۲۵ × ۰/۶ × ۳) برابر ۰/۴۵ متر مکعب باشد، برای رسیدن به نقطه ظرفیت زراعی، مقدار ۶۷/۵ لیتر (۰/۶۷۵ = ۰/۴۵ × ۰/۱۵) آبیاری در هر کرت لازم است. برای تیمار (۳۰ درصد تخلیه رطوبتی) خاک، (یعنی تامین ۷۰ درصد رطوبت خاک)، در حدود ۴۷/۲۵ لیتر (۴۷/۲۵ = ۰/۷۰ × ۶۷/۵) آبیاری نیاز است. همین طور برای (۶۵ درصد تخلیه رطوبتی) یعنی تامین ۳۵ درصد رطوبت خاک، به ۲۳/۶۲۵ لیتر آبیاری در هر کرت (۲۳/۶۲۵ = ۰/۳۵ × ۶۷/۵) نیاز است. با توجه به سیستم آبیاری قطره ای، هر دو و یا سه روز در میان آبیاری انجام شد و هر بار رطوبت پشته ها با استفاده از روش تی دی آر (TDR; Time-Domain Reflectometry)، تعیین و نسبت به تیمار مربوطه، کسری آب جبران گردید. در واقع دور آبیاری تاثیر پذیر از رطوبت به دست آمده توسط روش تی دی آر بود در فروردین و اردیبهشت ماه تیمارهای تحت تنش در روزهای بارانی به طور موقت با نایلون پوشانده شدند به طوریکه راه نفوذ آب باران در این تیمارها بسته شدند.

نتایج و بحث

نتایج جداول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شدت‌های مختلف کم‌آبیاری بر بیشتر صفات بیوشیمیایی میوه توت‌فرنگی تاثیر معنی‌دار داشت. با افزایش شدت تنش، مقدار مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون (اسیدیته کل) و آنتوسیانین کل میوه کاهش و میزان ویتامین ث، فلاونوئید کل، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کردند (جدول ۱).

فاکتورهای کیفی و بیوشیمیایی مرتبط با میوه، مواد جامد محلول، اسیدیته کل و ویتامین ث میوه

مقدار مواد جامد محلول (TSS; Total Soluble Solid) تحت تیمار (۳۰ درصد تخلیه رطوبتی)، تغییر معنی‌دار نشان نداد، اما در تنش (۶۵ درصد تخلیه رطوبتی) به کم‌ترین مقدار خود (۶/۹۳ درصد) رسید (جدول ۱). پژوهشگران علت کاهش مقدار این صفت را به کاهش فتوسنتز و افزایش شدت تنفس در اثر تنش خشکی مرتبط می‌دانند. با کاهش فتوسنتز تولید مواد هیدروکربنه کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش شدت تنش، شکستن پلی‌ساکاریدها به اجزای کوچک‌تر و مصرف بیشتر منوساکاریدها و دی‌ساکاریدها اتفاق افتاده، در نهایت میزان مواد جامد محلول کاهش پیدا می‌کنند (Ariza et al., 2021). میزان اسیدیته کل میوه (TA; Total acid)، تحت تنش کم‌آبی، کاهش پیدا نمود. کم‌ترین مقدار این صفت (۵/۸۴ میلی‌گرم در صدگرم وزن تر) تحت شرایط تیمار (۶۵ درصد تخلیه رطوبتی) با اختلاف بسیار معنی‌دار مشاهده شد. در راستای این تحقیق، سایر پژوهشگران تغییرات اسیدیته کل تحت تاثیر تنش کم‌آبی در توت‌فرنگی را گزارش کرده اند (Ghaderi & Siosemardeh, 2013).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات کم‌آبیاری (I; I₁, I₂, I₃), رقم (C; Queen Eliza و Paros) و سال (Y; Y₁ و Y₂) بر صفات بیوشیمیایی میوه توت‌فرنگی.

Table 1. Mean comparison of deficit irrigation (I; I₁, I₂ and I₃), cultivar (C; Paros & Queen Eliza) and year (Y; Y₁ and Y₂) effects on biochemical traits of strawberry fruit.

تیمارها Treatments	درصد مواد جامد محلول TSS	اسیدیته کل Total TA (mg/100gr FW)	ویتامین ث Vitamin C mg/100gr (FW)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg Q/ 100gr FW)	آنتوسیانین کل Total anthocyanin (mg P-3- G/100gr FW)	فنل کل Total phenol (mg GA/100gr FW)	ظرفیت ضد اکسایشی Antioxidant capacity (%)
I ₁	9.03a	831a	78.60b	36.60b	46.8a	102.84b	25.6b
I ₂	9.50a	730a	89.40b	42.45b	31.2b	105.98b	27.0b
I ₃	6.93b	584b	136.80a	72.7a	26.4b	153.63a	34.7a
Paros	7.54b	742	92.52b	54.40	34.8	120.74	28.3b
Queen Eliza	9.44a	686	110.82a	48.43	33.6	120.89	29.8a
Y ₁	8.5	680	116.40	54.19	34.8	152.71	30.11
Y ₂	8.3	740	88.98	48.64	33.6	108.92	28.09
I	**	**	**	**	**	**	**
C	*	ns	*	ns	ns	ns	*
Y	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD است. ns, * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

Different letters in each column indicate significant differences based on LSD analysis. 'ns' = non-significant, '*' = significant at 5% probability, '**' = significant at 1% probability.

گزارش متفاوتی در این خصوص، تاثیر تیمار کم‌آبیاری تنظیم‌شده در محصول توت‌فرنگی بر اسیدیته کل میوه را بی‌اثر اعلام نموده است (Shahnazari & Rezaiyan, 2015). مقدار ویتامین ث (C; Ascorbic acid)، با بالا رفتن تنش، افزایش و تحت تیمار (تخلیه رطوبتی ۶۵ درصد) اختلاف بسیار معنی‌دار نشان داد و با بیش‌ترین مقدار (۱۳۶/۸ میلی‌گرم در صدگرم وزن تر) ثبت شد. ویتامین ث به‌عنوان یک شاخص ارزش غذایی میوه‌ها و سبزی‌ها، کاربرد فراوانی دارد و یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مطرح و شناخته شده است که در شرایط تنش آبی و گرمایی، بسیار به سیستم ایمنی نبات کمک می‌کند

(Ghasemnezhad *et al.*, 2012). در تایید این موضوع محققین داخلی تغییرات مقدار ویتامین ث در اثر تنش کم آبی را گزارش نموده‌اند (Fatemi *et al.*, 2009).

ظرفیت آنتی اکسیدانی و متابولیسم ترکیبات فنولی میوه

ظرفیت آنتی اکسیدانی و مقدار فنل کل و فلاونوئید کل با بالارفتن شدت تنش کم آبیاری، روند افزایشی داشتند. کمترین مقادیر این صفات به ترتیب ظرفیت آنتی اکسیدانی (۲۵/۶ درصد)، مقدار فنل کل (۳۴/۸۴ میلی گرم در صدگرم وزن تر میوه) و مقدار فلاونوئید کل (۶/۶ میلی گرم کوئرسیتین در صدگرم وزن تر میوه) در تیمار آبیاری شاهد مشاهده شد. با اعمال تنش کم آبیاری، بویژه در تنش شدیدتر، مقدار این صفات به ترتیب ۳۵، ۴۸ و ۹۲ درصد در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کردند. مقدار آنتوسیانین با بالارفتن تنش خشکی روند نزولی نشان داد و از مقدار (۰/۳۹) به مقدار (۰/۲۲) میلی گرم پلارگونیدین تری گلوکوزید در صدگرم وزن تر میوه رسید (جدول ۱). سهم زیادی از ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در توت فرنگی به دلیل ترکیب‌های فنلی و ویتامین ث است. بررسی‌ها نشان می‌دهند که توت فرنگی میزان بالایی فعالیت آنتی اکسیدانی دارد که با ترکیب‌های فنولی میوه‌ها مرتبط است (Scalzo *et al.*, 2005). گزارش‌هایی از افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی با بالارفتن شدت تنش خشکی در توت فرنگی وجود دارد (Sun *et al.*, 2015). در تایید نتایج بدست آمده، در پژوهش مشابهی محتوای فنل کل در نمونه میوه تازه و نمونه خشک شده به طور معنی داری در توت فرنگی رقم فلامنکو افزایش یافت. در رقم توت فرنگی اودالایت که تحت تنش کم آبیاری قرار داشت بیش از ۴۰ درصد مقدار فنل کل در نمونه میوه تازه، افزایش نشان داد. با این حال، در وزن خشک میوه افزایش محتوای فنلی را می‌توان بیشتر به اثر رقت آب نسبت داد (Weber *et al.*, 2018). به طور کلی میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی و فنل کل در میوه‌های تحت تیمار با کم آبیاری بسیار بیش تر است. پژوهش‌ها نشان داده که عصا توت فرنگی فعالیت آنزیمی بالایی برای غیرفعال کردن اکسیژن‌های آزاد و همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی بالایی در برابر رادیکال‌های آزاد بواسطه حضور ترکیبات فنلی دارد (Pineli *et al.*, 2011). از سوی دیگر، به نظر می‌رسد تنش خشکی با افزایش محتوای ترکیبات آنتی اکسیدانی و قندها یک راهکار امیدوارکننده برای بهبود کیفیت میوه توت فرنگی و کاهش مصرف آب باشد. با این حال، مقدار تنش وارد شده به گیاهان باید به دقت کنترل شود تا از کاهش عملکرد محصول و میزان زیست توده جلوگیری شود (Perin *et al.*, 2019).

آنتوسیانین‌ها در توت فرنگی به لحاظ کمی از مهم‌ترین ترکیب‌های پلی فنلی شناخته شده هستند. پلارگونیدین تری گلوکوزید فراوان‌ترین آنتوسیانین در همه رقم‌های توت فرنگی است که ۶۴-۳۱ درصد آنتوسیانین کل را تشکیل می‌دهد (Da Silva *et al.*, 2007). در حالت عادی، سنتز هورمون‌های گیاهی و فرآیند فتوسنتز، تجمع رنگیزه‌های کاروتنوئید و آنتوسیانین را در گیاه و محصول افزایش می‌دهند. هر عاملی از جمله تنش و سایر فاکتورهایی که در فرآیند فتوسنتز اختلال ایجاد کند از میزان تولید رنگیزه‌ها خواهد کاست که با نتایج این تحقیق سازگار است (Capitani *et al.*, 2005). همچنین در تایید این گزارش، پژوهشگران همچنین مشاهده کردند که محتوای آنتوسیانین‌ها در میوه تحت تنش آبی کاهش می‌یابند، که با کاهش ژن‌های (UFGT)، که به شدت برای بیوسنتز و ذخیره‌سازی آنتوسیانین مورد نیاز است، همبستگی دارد (Perin *et al.*, 2019). پژوهشگران دیگری نیز کاهش مشابهی در محتوای آنتوسیانین مشاهده کردند. با این حال، کاهش و یا افزایش در محتوای این ترکیبات وابسته به رقم بود (Weber *et al.*, 2017). ظرفیت آنتی اکسیدانی، ویتامین ث و مواد جامد محلول تحت تاثیر تنش کم آبیاری در مرحله گل‌دهی و میوه‌دهی بر ارقام مورد مطالعه در سطح ۵ درصد معنی دار شدند. ظرفیت آنتی اکسیدانی، ویتامین ث و مواد جامد محلول در رقم کویین الیزا نسبت به رقم پاروس بالاتر بود. از مهم‌ترین خصوصیات مرحله رویش بهاره، شروع رشد رویشی از دماهای پایین، مرحله شکوفاشدن جوانه‌های زایشی، تشکیل میوه و گرده‌افشانی و رشد میوه و رسیدگی میوه در یک فاز ۷۰ روزه است. در این مرحله علیرغم خنکی هوا، سرعت متابولیسم گیاهی بالا بوده و تنش کم آبیاری می‌تواند روی عملکرد و فعالیت اندام‌های سلولی تاثیر بگذارد. واکنش رقم کویین الیزا در مقابل تنش کم آبیاری در این مرحله نشان از تحمل بیشتر این رقم نسبت به رقم توت فرنگی پاروس دارد.

صفات بیوشیمیایی (پرولین، کربوهیدرات‌های محلول کل، پروتئین‌های محلول کل و مالون‌دی‌الدئید در بافت برگ)

از مهم‌ترین خصوصیات مرحله رویش تابستانه بوته توت فرنگی ادامه رشد رویشی بوته‌ها، تولید ساقه‌های رونده در روزهای بلند تابستان و مواجهه گیاه با دمای بالای هوا است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در طول تابستان، به دلیل گرمای تابستان

و تعرق بیش‌تر، تیمار کم‌آبیاری تاثیر معنی‌داری بر صفات بیوشیمیایی برگ از قبیل مقدار پرولین، کربوهیدرات‌های محلول‌کل، پروتئین‌های محلول‌کل و مالون‌دی‌الدئید داشت و بیشترین مقادیر این صفات در تیمار (۶۵ درصد تخلیه‌رطوبتی) مشاهده شد. هم‌چنین در زمان نمونه‌برداری اردیبهشت‌ماه، تنها اثر تیمار رقم بر صفت کربوهیدرات‌های محلول معنی‌دار شد (جدول ۲). پرولین و کربوهیدرات‌های محلول‌کل با زیادشدن شدت تنش افزایش نشان‌دادند، بیش‌ترین مقادیر این ترکیبات به‌ترتیب (۲۱/۵ و ۰/۳۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار (۶۵ درصد تخلیه‌رطوبتی) خاک و در زمان تابستان ثبت شدند. مقدار پروتئین محلول‌کل برگ با افزایش شدت تنش کاهش پیدا کرد. کم‌ترین مقدار پروتئین (۰/۴۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار کم‌آبیاری شدید و در زمان پاییز و بیشترین مقدار آن (۰/۷۴ میلی‌گرم) در شرایط شاهد در تابستان اتفاق افتاد (جدول ۲).

در تنش کم‌آبیاری سیستم دفاعی گیاه، برای افزایش فشار اسمزی سلول‌های برگ و کمک به جذب آب بیش‌تر، تولید ترکیبات اسمولیتی را در داخل سلول‌های برگ افزایش می‌دهد. اسمولیت‌ها شامل کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی (مالات و اگزالات) و ترکیبات نیتروژنی (پروتئین، پرولین، پوترسین، گلوتامات، و غیره) هستند (Kinnersley & Turano, 2000). پرولین یکی از اسمولیت‌های سازگارکننده به‌شرایط تنش است که با تنظیم پیام‌رسانی، تنظیم اسمزی، تثبیت غشاهای سلولی، مهار رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها نقش سازگارکننده خود را ایفا می‌کند (Hayat et al., 2012). پرولین تحت تاثیر استرس خشکی افزایش معنی‌داری در دو رقم توت‌فرنگی نشان دادند (Ghaderi & Siosemardeh, 2011) افزایش پرولین موجبات افزایش فشار اسمزی و شرایط ادامه جذب آب را فراهم کرد. در ارقامی از توت‌فرنگی که میزان پرولین بالا بوده محتوای نسبی آب هم بالا بوده است این نکته بیانگر اینست که وجود پرولین زیاد در برگ توت‌فرنگی، به‌عنوان یک قابلیت در مقاومت به استرس‌های خشکی قلمداد می‌شود. کربوهیدرات‌های محلول و پرولین نقش مهمی در تنظیم اسمزی دارند. تنظیم اسمزی به‌عنوان یک ویژگی تحمل به خشکی در توت‌فرنگی شناخته شده است (Grant et al., 2010). در شرایط تنش، کربوهیدرات‌های محلول (شکر محلول) به‌عنوان ترکیبات محافظ فشار اسمزی، آمادگی بیش‌تری برای سازگاری با تنش در گیاه ایجاد می‌کنند (Zahedi et al., 2023).

در توجیه علمی دلیل کاهش پروتئین‌های محلول‌کل در بافت برگ توت‌فرنگی در مطالعه حاضر، می‌توان به کاهش کارایی دستگاه فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی اشاره داشت. در شرایط تنش خشکی، بسیاری از آنزیم‌های موثر در چرخه کالوین و هم‌چنین فعالیت آنزیم‌هایی نظیر گلوتامین‌سنتتاز و گلوتامات‌سنتتاز با اختلال روبرو شده و سنتز پروتئین‌ها، کند و متوقف می‌گردد. هم‌چنین فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و میل زیاد اکسندگی این ترکیبات در تنش کم‌آبیاری، از عوامل غیرمستقیم کاهش پروتئین‌های محلول در برگ محسوب می‌شوند (Khan et al., 2003). نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی در اثر کم‌آبیاری، میزان مالون‌دی‌الدئید بافت برگ نیز افزایش پیدا کرد. برای مثال، مقدار آن در تنش (۶۵ درصد تخلیه‌رطوبتی) در تابستان نسبت به تیمار شاهد در زمان بهار در حدود ۲۶ درصد افزایش نشان داد (جدول ۲). با افزایش شدت تنش، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی بالا رفته و تخریب غشاء باعث کاهش پایداری آن‌ها و افزایش نشت یونی غشاء و تجمع مالون‌دی‌الدئید در فضای بین‌سلولی می‌شود.

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بافت برگ و فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO

با افزایش تنش کم‌آبیاری، مقادیر آسکوربات کل، گلووتاتیون احیا، فنولیک اسید و پراکسیدهایروژن افزایش نشان دادند (جدول ۳). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل مولکول‌های سبک آسکوربات، گلووتاتیون و کاروتینوئیدها هستند. چرخه آسکوربات-گلووتاتیون از چرخه‌های مهم درگیر در رفع تنش‌های اکسیداتیو است. گلووتاتیون و آسکوربات در آب محلول بوده و در اندامک‌های سلولی حضور دارند. این آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید و هیدروکسیل واکنش داده و آن‌ها را از بین می‌برند. کم‌ترین مقدار آسکوربات (۴۴/۸ میکرومول برگرم وزن خشک) و بیش‌ترین (۷۳/۵ میکرومول برگرم وزن خشک)، به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار (۶۵ درصد تخلیه‌رطوبتی) مشاهده شد. در روندی مشابه، مقدار گلووتاتیون برحسب میکرومول برگرم وزن خشک در تیمار (۶۵ درصد تخلیه‌رطوبتی) حدود ۷۴ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان داد (جدول ۳). در تایید این بررسی، افزایش مقدار آسکوربات و گلووتاتیون در محصولات گیاهی در پاسخ به تنش کم‌آبیاری گزارش شده است (Gill & Tuteja, 2010). مقدار فنولیک‌اسید در تیمار (۶۵ درصد تخلیه‌رطوبتی)، در حدود ۱/۸

واحد (بر حسب میلی گرم در گرم وزن خشک) بیشتر از مقدار آن در تیمار شاهد بود. تقریباً در همه آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی فوق، تیمار (۶۵ درصد تخلیه رطوبتی) دارای بیشترین مقدار در کلاس a و تیمار شاهد و تیمار (۳۰ درصد تخلیه رطوبتی) با مقادیر کمتر از آن، به ترتیب در کلاس‌های c و b قرار گرفتند در مرحله نمونه برداری تابستانه (T2) برگ‌ها علاوه بر تاثیر تیمار کم آبیاری تحت تاثیر افزایش دمای هوا، آنتی اکسیدان غیر آنزیمی بیشتری تولید کردند (جدول ۳). خشکی، حساسیت دستگاه‌های فتوسنتزی گیاهان به اشعه ماوراء بنفش را کاهش می‌دهد. از طرف دیگر فنول‌های متصل به دیواره سلول می‌توانند نفوذپذیری سلول به اشعه ماوراء بنفش را کاهش دهند (Ebrahimie *et al.*, 2003). گزارش شده که محتوای فنل کل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز (PAL) در اثر تنش خشکی در گیاه افزایش یافته (Rezayian *et al.*, 2018). فنیل آلانین آمونیلیاز و چند آنزیم دیگر به عنوان آنزیم‌های مسئول در مقابل تنش شناخته شده‌اند. ارتقای کارایی آنزیم (PAL) با تنظیم افزایشی آنزیم‌های بیوسنتتیک گذشته توسط نسخه‌های ژنی مهم همراه شد (Gharibi *et al.*, 2019). صرف نظر از فصل رشد، بیشترین میزان پراکسید هیدروژن (۸۶/۳ میکرومول در گرم وزن تر برگ) در تیمار (۶۵ درصد تخلیه رطوبتی) مشاهده شد (جدول ۳). پراکسید هیدروژن از ROS های مهمی است که توسط سوپراکسید دیسموتاز تولید می‌شود (Ghannoum, 2008).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات کم آبیاری (I; I₁, I₂, I₃)، رقم (C; Queen Eliza, Paros) و سال (Y; Y₁, Y₂) بر صفات بیوشیمیایی بافت برگ دو رقم توت فرنگی در سه زمان مختلف اندازه گیری (T; T₁, T₂, T₃).

Table 2. Mean comparison of deficit irrigation (I; I₁, I₂, I₃), cultivar (C; Paros, Queen Eliza) and year (Y; Y₁, Y₂) effects on biochemical traits in strawberry leaf tissue at different growth stages (T; T₁, T₂, T₃)

تیمارها Treatments	Different growth stages مراحل رشدی مختلف											
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
	پروترین Proline (mg/g FW)	پروترین Proline (mg/g FW)	پروترین Proline (mg/g FW)	کربوهیدرات‌های محلول soluble carbohydrates (mg/g FW)	کربوهیدرات‌های محلول soluble carbohydrates (mg/g FW)	کربوهیدرات‌های محلول soluble carbohydrates (mg/g FW)	پروتئین‌های محلول soluble proteins (mg/g FW)	پروتئین‌های محلول soluble proteins (mg/g FW)	پروتئین‌های محلول soluble proteins (mg/g FW)	مالون‌دی‌آلدئید MDA (nmol/g FW)	مالون‌دی‌آلدئید MDA (nmol/g FW)	مالون‌دی‌آلدئید MDA (nmol/g FW)
I ₁	0.16a	0.15c	0.15c	16.8a	16.9b	17.9a	0.73a	0.74a	0.69a	57.9a	60.7b	61.0b
I ₂	0.31a	0.28b	0.25b	18.9a	19.1ab	18.9a	0.68a	0.64b	0.63b	58.9a	63.2b	62.9b
I ₃	0.31a	0.39a	0.36a	20.6a	21.5a	20.5a	0.56b	0.50c	0.49c	69.5a	73.5a	71.8a
Paros	0.28a	0.27a	0.23b	17.8a	18.0a	17.9a	0.64a	0.62a	0.58a	64.6a	66.6a	66.1a
Queen Eliza	0.24a	0.28a	0.27a	19.7a	20.3a	20.3a	0.68a	0.63a	0.63a	59.5a	65.0a	64.3a
Y ₁	0.21a	0.28a	0.25a	19.2a	19.3a	19.4a	0.67a	0.61a	0.61a	60.1a	66.3a	65.1a
Y ₂	0.31a	0.26a	0.26a	18.3a	19.1a	18.7a	0.65a	0.64a	0.60a	64.1a	65.3a	65.3a
I	ns	**	**	ns	**	ns	**	**	**	ns	**	**
C	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Y	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD است. ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

Different letters in each column indicate significant differences based on LSD analysis. 'ns' = non-significant, '*' = significant at 5% probability, '**' = significant at 1% probability.

در شرایط کم آبیاری، کاهش هدایت روزنه‌ای اتفاق افتاده و غلظت CO₂ در برگ کاهش می‌یابد. در نتیجه، چرخه کلورین مختل شده و تنفس نوری افزایش یافته و منجر به افزایش پراکسید هیدروژن در پراکسی زوم‌ها می‌شود (Ghannoum, 2008). افزایش میزان پراکسید هیدروژن در تنش خشکی در توت فرنگی گزارش شده است (Ariza *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2015). افزایش مقدار صفاتی مانند آسکوربات کل، فنولیک اسید و پراکسید هیدروژن در پاسخ به تنش کم آبی بسته به رقم متفاوت بوده به طوریکه مقدار فنولیک اسید و آسکوربات کل در رقم کوئین الیزا کمتر بوده و آنزیم‌های اکسیدکننده این مواد نیز کمتر بوده است که نشان از مقاومت بیشتر رقم کوئین الیزا به تنش در مقایسه با رقم پاروس بوده است (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات کم‌آبیاری (I_1, I_2, I_3)، رقم (Paros و Queen Eliza) و سال (Y_1, Y_2 و Y) بر محتوای آسکوربات، گلوپتاتینون، فنولیک اسید و پراکسید هیدروژن نمونه برگ‌ی دو رقم توت‌فرنگی در سه مرحله رشدی مختلف (T_1, T_2, T_3).

Table 3. Mean comparison of deficit irrigation (I_1, I_2, I_3), cultivar (C; Paros, Queen Eliza) and year (Y_1, Y_2) effects on Ascorbate, glutathione, Phenolic acid, and H_2O_2 in leaf sample of strawberry at different growth stages (T_1, T_2, T_3).

Treatments	Different growth stages											
	مراحل رشدی مختلف			مراحل رشدی مختلف			مراحل رشدی مختلف			مراحل رشدی مختلف		
	T_1	T_2	T_3	T_1	T_2	T_3	T_1	T_2	T_3	T_1	T_2	T_3
	آسکوربات			گلوپتاتینون			فنولیک اسید			پراکسید هیدروژن		
	Ascorbate (m. mole/g DW)			Glutat. (m. mole/g DW)			Phenolic acid (mg/g DW)			H_2O_2 (m. mole/g fw)		
I_1	50.0b	46.5b	44.8b	26.4b	28.8c	30.6b	2.81c	3.04c	3.16b	58.7b	61.4b	61.2b
I_2	52.6b	49.1b	48.5b	30.0b	34.6b	33.9b	3.48b	4.29b	3.55b	61.1b	62.8b	63.5b
I_3	65.1a	73.5a	65.3a	35.5a	46.1a	42.0a	4.91a	5.16a	4.87a	82.2a	86.3a	84.5a
paros	52.4b	51.6b	47.6b	34.6a	37.9a	35.5a	3.46b	3.84b	3.75a	69.6a	71.9a	70.5a
Queen Eliza	59.4a	61.1a	58.1a	26.9a	35.1a	35.4a	4.02a	4.49a	3.97a	65.1a	68.5a	68.9a
Y_1	54.2a	59.7a	51.8a	30.0a	43.2a	35.2a	3.46a	4.19a	3.80a	67.6a	71.1a	70.4a
Y_2	57.6a	53.1a	53.9a	31.2a	29.9a	35.8a	4.01a	4.14a	3.92a	67.1a	69.2a	69.1a
I	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
C	**	**	**	**	ns	ns	**	**	ns	ns	ns	ns
Y	ns	**	ns	ns	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
$I \times C$	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
$I \times Y$	ns	**	ns	ns	*	ns	**	*	ns	ns	ns	ns
$Y \times C$	ns	*	ns	ns	ns	ns	**	**	ns	ns	ns	ns
$I \times C \times Y$	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD است. ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

Different letters in each column indicate significant differences based on LSD analysis. 'ns' = non-significant, '*' = significant at 5% probability, '**' = significant at 1% probability.

نتایج یک تحقیق دیگر نشان می‌دهد که در شرایط تنش، مواد بیوشیمایی گیاه برای منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی افزایش یافته و هر مقدار گیاه مقاومت بیشتری از خود نشان داده سنتز موادی مانند فنولیک اسید، آسکوربات کل و گلوپتاتینون احیا کاهش یافته‌است. در تایید این پژوهش، تحقیقات پیشین نیز نشان داد که تنش خشکی بر تبادلات گازی، سطح کلروفیل، پرولین و کربوهیدرات‌های محلول تأثیرگذار بوده‌است (Ghaderi & Siosemardeh, 2011). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محتوای آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونالیاز با افزایش شدت تنش کم‌آبیاری در برگ توت‌فرنگی به صورت معنی‌داری افزایش یافت، به طوریکه بیشترین مقدار آنزیم‌های PAL و PPO به ترتیب ۴۳/۳ و ۵۸/۰ (واحد پروتئین بر میلی گرم) در تیمار (۶۵ درصد تخلیه رطوبتی) و در تابستان مشاهده شد (جدول ۴). در مورد فصول مختلف یادداشت برداری، روند تغییرات این آنزیم‌ها در تابستان افزایشی و در پاییز کاهش‌ی بود (جدول ۴). علت این تغییرات را می‌توان به گرمای تابستان، شدت تنش و مرحله فنولوژیکی گیاه نسبت داد. پلی‌فنل اکسیداز به عنوان یک آنزیم کاتالیزورکننده در واکنش‌های اکسیداسیون عمل می‌کند. این آنزیم هیدرولیز منوفنل‌ها به یک دی‌فنل‌ها و اکسیداسیون یک دی‌فنل‌ها را به یک کوینون‌ها و معادل آن کاتالیز می‌کند و سبب تجمع ملانین به عنوان رنگیزه مسئول رنگ قهوه‌ای در بافت‌های گیاهی می‌شود (Falguera et al., 2011; Chiabrando & Giacalone, 2016). فنیل آلانین آمونالیازها، نیز با افزایش فعالیت آن‌تی اکسیدانی، گیاهان را در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده مقاوم می‌کنند. با افزایش آنزیم فعالیت PAL، سنتز و تجمع ترکیبات فنلی از قبیل فلاونوئیدها و فنل‌ها افزایش می‌یابند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات کم آبیاری (I; I₁, I₂, I₃)، رقم (C; Queen Eliza و Paros) و سال (Y; Y₁ و Y₂) بر فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونولیز و پلی فنل اکسیداز نمونه برگ‌ی دو رقم توت‌فرنگی در سه فصل رویشی مختلف (T; T₁, T₂, T₃).
Table 4. Mean comparison of deficit irrigation (I; I₁, I₂, I₃), cultivar (C; Paros, Queen Eliza) and year (Y; Y₁, Y₂) effects on PAL and leaf PPO enzymes activity in leaf sample of strawberry in different growth seasons (T; T₁, T₂, T₃).

تیمارها Treatments	Different growth stages مراحل رشدی مختلف					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
	فنیل آلانین آمونولیز PAL (U/mg protein)			پلی فنل اکسیداز PPO (U/mg Protein)		
I ₁	28.0b	29.8c	31.4b	0.34c	0.36b	0.34b
I ₂	31.2b	36.3b	31.9b	0.40b	0.42b	0.33b
I ₃	41.5a	43.3a	41.2a	0.47a	0.58a	0.47a
Paros	32.5a	34.5b	33.6a	0.39a	0.39a	0.35a
Queen Eliza	34.6a	38.4a	36.1a	0.41a	0.52a	0.41a
Y ₁	32.8a	37.3a	34.1a	0.40a	0.50a	0.37a
Y ₂	34.3a	35.6a	35.6a	0.41a	0.40b	0.40a
I	**	**	**	**	*	**
C	ns	*	ns	ns	ns	**
Y	ns	ns	ns	ns	*	*
I×C	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I×Y	ns	ns	ns	ns	ns	**
Y×C	ns	ns	**	ns	ns	ns
I×C×Y	ns	ns	ns	ns	ns	ns

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD است. ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

Different letters in each column indicate significant differences based on LSD analysis. 'ns' = non-significant, '*' = significant at 5% probability, '**' = significant at 1% probability.

گزارش‌هایی از افزایش ۲۸/۲ درصدی فعالیت این آنزیم در پاسخ به مصرف برگ‌ی عنصر آهن در مرحله گل‌دهی توت‌فرنگی و تسریع رسیدن و رنگ‌گیری میوه وجود دارد (Rezaei *et al.*, 2019). هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی فنیل آلانین آمونولیز تحت محلول‌پاشی SiO₂ در توت‌فرنگی تحت تنش خشکی گزارش شده است (Zahedi *et al.*, 2023). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که برهمکنش رقم و سال بر محتوای آنزیم فنیل آلانین آمونولیز (جدول ۵) و فنولیک‌اسید به‌خصوص در فصول تابستان و پاییز معنی‌دار شد و بیشترین مقدار این صفات به‌ترتیب (۴۱/۶۷ واحد پروتئین بر میلی‌گرم و ۴/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در رقم کوئین‌الیزا مشاهده شد. در مورد صفت فنولیک‌اسید، برهمکنش رقم و سال، تنها در زمان اندازه‌گیری تابستان معنی‌دار شد. بر این اساس تیمارهای کم آبیاری در طول دو سال روی دو رقم توت‌فرنگی کوئین‌الیزا و پاروس موثر بوده، به‌طوریکه بیشترین مقدار فنولیک‌اسید (۴/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش شدید در تابستان و در رقم کوئین‌الیزا مشاهده شد (شکل ۱).

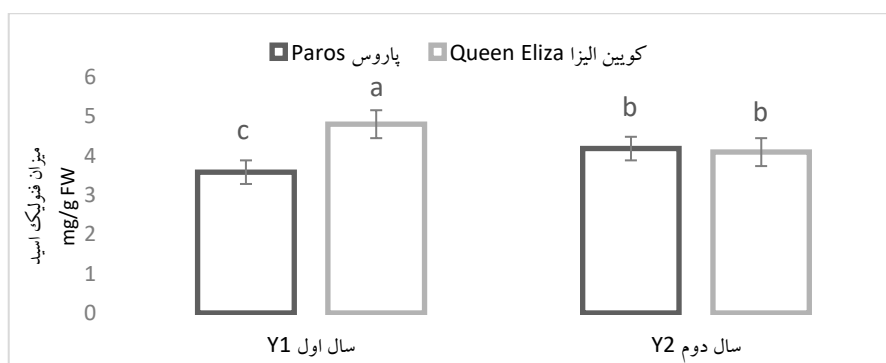
جدول ۵. مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم (C; Paros, Queen Eliza) و سال (Year; Y₂, Y₁) بر محتوای فنیل آلانین آمونولیز و فنولیک اسید در نمونه برگ توت‌فرنگی در دو فصل رشد مختلف (T; T₂, T₃).

Table 5. Mean comparison of cultivar (Paros, Queen Eliza) and year (Y; Y₁, Y₂) interaction effects on PAL and phenolic acid contents in leaf sample of strawberry at different growth seasons (T; T₂, T₃).

ارقام توت‌فرنگی Strawberry cultivars	فنیل آلانین آمونولیز PAL (U/mg protein)				فنولیک اسید Phenolic acid (mg/g FW)	
	T ₂ *		T ₃		T ₂	
	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂
Paros	33.00b	36.00b	29.89c	37.33ab	3.58c	4.09b
Queen Eliza	41.67a	35.20b	38.33a	33.78bc	4.80a	4.18b

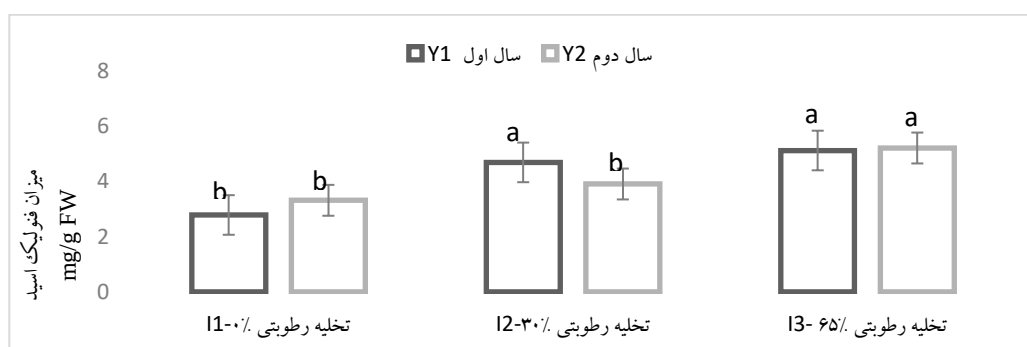
حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه میانگین LSD است. * فقط مقایسه میانگین صفات در فصول رشدی که برهمکنش آنها با سال معنی‌دار شده بود، آورده شد.

Different letters in each column indicate significant differences by LSD analysis. Only parameters with significant interaction effects with the year in specific growth seasons are included.



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش رقم (C; Paros, Queen Eliza) و سال (Y; Y₂ & Y₁)، با ملاحظه انحراف استاندارد بر مقدار فنولیک اسید بافت برگ توت‌فرنگی. وجود حروف مشابه در هر سری از میانگین‌ها، نشان دهنده نبود اختلاف معنی‌دار، در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون LSD است. خطوط افقی بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد است (n=۱۲).

Figure 1. Mean comparison of interaction effects of cultivar (Paros & Queen Eliza) and year (Y₁ & Y₂) considering the standard deviation on leaf phenolic acid content in strawberry plant. The presence of different letters in each series of averages indicates a significant difference at 1% probability level based on LSD (Least Significant Difference) test. The horizontal lines above each column indicate the standard deviation (n=12).



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش تیمار کم‌آبیاری (I; I₁, I₂ & I₃) و سال (Y; Y₂ & Y₁) با ملاحظه انحراف استاندارد بر مقدار فنولیک اسید بافت برگ توت‌فرنگی. وجود حروف مشابه در هر سری از میانگین‌ها، نشان دهنده نبود اختلاف معنی‌دار، در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون LSD است. خطوط افقی بالای هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد است (n=۱۲).

Fig. 2. Mean comparison of interaction effects of deficit irrigation (I; I₁, I₂ & I₃) and year (Y₁ & Y₂) considering the standard deviation on leaf phenolic acid content in strawberry plant. The presence of different letters in each series of averages indicates a significant difference at 1% probability level based on LSD (Least Significant Difference) test. The horizontal lines above each column indicate the standard deviation (n=12).

نتیجه گیری

مرور کلی نتایج نشان داد که در تنش ملایم کم آبی (تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبتی)، شاخص های بیوشیمیایی میوه حفظ و حتی بهبود پیدا کردند. برای مثال تحت تاثیر تنش ملایم کم آبی، مقادیر بالاتری از مواد جامد محلول، ویتامین ث، فلاونوئید و مواد فنلی تولید و ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه افزایش نشان داد. در مرحله رویش بهاره تغییرات افزایشی در میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی، فنل، فلاونوئید و ویتامین ث مشاهده و در مرحله رویش تابستانه و پاییزه تغییرات افزایشی و معنی دار بیشتر در میزان پرولین، کربوهیدرات محلول، مالون دی آلدئید و آسکوربات دیده شد. درصد بالاتر مواد آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در رقم توت فرنگی کویین الیزا، نقش این رقم را برای کاشت در مناطق شمال غربی و حاشیه زاگرس تحت تنش ملایم کم آبیاری، برجسته می سازد. رقم کویین الیزا با درصد بالاتری از مواد جامد محلول، آسکوربات، گلوکاتینون، فنولیک اسید و فنیل آلانین آمونالیاز و پلی فنل اکسیداز، از برتری بالاتری برخوردار است.

سپاسگزاری

بدینوسیله ضمن تشکر از حمایت های مالی، علمی و معنوی دانشگاه زنجان، از دانشگاه کردستان، اداره کل هواشناسی کردستان، اداره کل استاندارد کردستان و موسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور نیز به جهت در اختیار قرار دادن آزمایشگاه و برخی از مواد شیمیایی تشکر و قدردانی می گردد.

References

منابع

- Ahmadi, A., & Ceiocemardeh, A. (2004). Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and Proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. *Iran Journal of Agricultural Science*, 35, 753-763.
- Ariza, M. T., Miranda, L., Gómez-Mora, J. A., Medina, J. J., Lozano, D., Gavilán, P., & Martínez-Ferri, E. (2021). Yield and fruit quality of strawberry cultivars under different irrigation regimes. *Agronomy*, 11, 261.
- Anonymous. (2022). Agricultural Statistics Information. Ministry of Agricultural Jihad, Iran. Volume 3. *Horticultural Products*. (In Persian).
- Babaei, S., Ahmadi, S., Tahmasebi, I., & Sarsefyi, M. (2022). Efficacy of chemical and non-chemical weed control approaches in strawberry (*Fragaria ananassa*) fields in Kurdistan. *Iranian Journal of Weed Science*, 18, 11-22. (In Persian).
- Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M., & Avni Oktem, H. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 42, 69-77.
- Bor, J. Y., Chen, H. Y., & Yen, G. C. (2006). Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1680-1686.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Capitani, F., Biondi, S., Falasca, G., & Ziosi, V. (2005). Methyl jasmonate disrupts shoot formation in tobacco thin cell layers by over-inducing mitotic activity and cell expansion. *Planta*, 22, 507-519.
- Chiabrando, V., & Giacalone, G. (2016). Effects of edible coatings on quality maintenance of fresh cut nectarines. *Journal of Food and Agriculture*, 28: 201.
- Da Silva, F. L., Escribano-Bailón, M. T., Alonso, J. J. P., Rivas-Gonzalo, J. C., & Santos-Buelga, C. (2007). Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 374-382.
- D'Cunha, G. B., Satyanarayan, V., & Nair, P. M. (1996). Purification of phenylalanine ammonia lyase from *Rhodotorula glutinis*. *Phytochemistry*, 42, 17-20.
- Ebrahimie, E., Habashi, A., Ghareyazie, B., Ghannadha, M., & Mohammadie, M. (2003). A rapid and efficient method for regeneration of plantlets from embryo explants of cumin (*Cuminum cyminum*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 75, 19-25. (In Persian).
- Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi Eslami, S.M., & B. (2010). Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. *Central European Journal of Biology*, 5, 338-345.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Journal of Food Science and Technology*, 22, 292-303.
- Fatemi, L.S., Tabatabaei, S.J., & Fallahi, E. (2009). The effect of silicon on the growth and yield of strawberry grown under saline conditions. *Journal of Horticulture Science*, 23, 88-95.
- Ghaderi, N., & Siosemardeh, A. (2011). Response to drought stress of two strawberry cultivars (cv. Kurdistan and Selva). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52, 6-12. (In Persian).

- Ghaderi, N., & Siosemardeh, A. (2013). Effect of Water Stress on Some Physiological Characteristics in Three Strawberry Cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 44, 129-136. (In Persian).
- Ghannoum, O. (2008). C4 photosynthesis and water stress. *Annals of Botany*, 103, 4. 635-644.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., Talebi, M., & Matkowski, A. (2019). The effect of drought stress on polyphenolic compounds and expression of flavonoid biosynthesis related genes in *Achillea pachycephala* Rech. *Phytochemistry*, 162, 90-98.
- Ghasemnezhad, A., Ghasemi, Y., Hemati, Kh., Ebrahimzadeh, M.A., & Ghasemi, K. (2012). Effect of type of rootstock and fruit tissue on some chemical properties of page mandarin and thompson novel orange. *Journal of Plant Production*, 19, 43-54.
- Ghorbani, A., Zarinkamar, F., & Fallah, A. (2009). The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of two rice varieties in seedling stage. *Journal of Crop Breeding*, 1, 50-66
- Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry Journal*, 48, 909-930.
- Gillespie, K.M., & Ainsworth, E.A. (2007). Measurement of reduced, oxidized and total ascorbate content in plants. *Nature Protocols*, 2, 871-4.
- Grant, O. M., Johnson, A. W., Davies, M. J., James, C. M., & Simpson, D. W. (2010). Physiological and morphological diversity cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*) in response to water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 264-272.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling & Behavior*, 7, 11, 1456-1466.
- Iranzo, B., Pertegaz, J. C., & Balsalobre, A. P. (1984). Characterization and measurement of astringency and tannin content in Rojo Brillanteg persimmon quality and systems. *Acta Horticulturae*, 601, 227-231.
- Kaijv, M., Sheng, L., & Chao, C. (2006). Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. *Food Science*, 27, 110-115.
- Khan, W., Prithiviraj, B., & Smith, D.L. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160, 5. 485-492.
- Kinnersley, A.M., & Turano, F.J. (2000). Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19, 479-509.
- Medda, S., Dessena, L., & Mulas, M. (2020). Monitoring of the PAL enzymatic activity and polyphenolic compounds in leaves and fruits of two myrtle cultivars during maturation. *Agriculture*, 10, 389.
- Liu, F., Savić, S., Jensen, C.R., Shahnazari, A., Jacobsen, S.E., Stikić, R., & Andersen, M.N. (2007). Water relations and yield of lysimeter-grown strawberries under limited irrigation, *Scientia Horticulturae*, 111, 128-132.
- Li, F., Xie, Y., Zhang, C., Chen, X., Song, B., Li, Y., Tang, Y., & Hu, J. (2014). Increased density facilitates plant acclimation to drought stress in the emergent macrophyte *Polygonum hydropiper*. *Ecological Engineering*, 71, 66-70.
- Li, L., & Wang, Y. (2023). Independent and combined influence of drought stress and nitrogen deficiency on physiological and proteomic changes of barley leaves. *Environmental and Experimental Botany*, 210, 105346
- Perin, E.C., Messias, R.S., Borowski, J.M., Crizel, R.L., Schott, I.B., Carvalho, I.R., Rombaldi, C.V., & Galli, V. (2019). ABA-dependent salt and drought stress improve strawberry fruit quality. *Food Chemistry*, 271, 516-526.
- Pineli, L., Moretti, C.L., Santos, M.S., Campos, A.B., Brasileiro, A.V., Córdova, A.C., & Chiarello, M.D. (2021). Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 11-16.
- Ranjbar, A., Rabiei, V., & Karami, F. (2014). Evaluation and selection of suitable strawberry cultivar for open field planting in Kurdistan province in Iran. *Plant Breeding and Seed Production*, 30-2, 351-355.
- Rezayian, M., Niknam, V., & Ebrahimzadeh, H. (2018). Improving tolerance against drought in canola by penconazole and calcium. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 149, 123-136.
- Salbitani, G., Bottone, C., & Carfagna, S. (2017). Determination of Reduced and Total Glutathione Content in Extremophilic Microalga *Galdieria phlegrea*. *Bio-protocol*, 7, e2372.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., & Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21, 207-213.
- Şener, S., Saygi, H., & Duran, C.N. (2023). Responses of In Vitro Strawberry Plants to Drought Stress under the Influence of Nano-Silicon Dioxide. *Sustainability*, 15, 15569.
- Shahnazari, A., & Rezaiyan, M. (2015). Effect of regulated deficit irrigation (RDI) and partial root zone drying (PRD) on quantitative and qualitative traits of strawberry. *Water and Soil*, 29, 820-827.
- Sharma, R.R., Singh, C.N., & Goswami, A.M. (2001). Polyphenol oxidase activity in mango (*Mangifera indica* L.) in relation to flowering behavior and the malformation incidence. *Fruits*, 56, 219-224.

- Sharova, E.I., Smolikova, G.N., & Medvedev, S.S. (2023). Determining Hydrogen Peroxide Content in Plant Tissue Extracts. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70, 216.
- Sun, C., Li, X., Hu, Y., Zhao, P., Xu, T., Sun, J., & Gao, X. (2015). Proline, sugars, and antioxidant enzymes respond to drought stress in the leaves of strawberry plants. *Horticultural Science and Technology*, 33, 625-632.
- Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64, 88-93.
- Weber, N., Schmitzer, V., Jakopic, J., & Stampar, F. (2018). First fruit in season: seaweed extract and silicon advance organic strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.) fruit formation and yield. *Scientia Horticulturae*, 242, 103-109.
- Zahedi, S.M., Hosseini, M.S., Hoveizeh, N.F., Kadkhodaei, S., & Vaculík, M. (2023). Comparative morphological, physiological and molecular analyses of drought-stressed strawberry plants affected by SiO₂ and SiO₂-NPs foliar spray. *Scientia Horticulturae*, 309, 111686.

Evaluation of Biochemical and Antioxidant Changes of Two Strawberries (Paros and Queen Eliza) Cultivars under Deficit Irrigation Conditions

Mohammad Sarsaiffee,¹ Ali Solamani,¹ Esmaail Amiri,¹ Naser Ghaderi²

1- Department of Horticultural Sciences, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

2- Department of Horticultural Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

* Corresponding author: E-mail: (asoleimani@znu.ac.ir)

The current study aimed to investigate the impact of water deficit treatment on the antioxidant and biochemical properties of the fruits and leaves of two strawberry cultivars, namely *Fragaria × ananassa* Duch. 'Paros' and 'Queen Eliza'. The study was conducted over two consecutive years (2019–2020) and across different growing seasons-spring, summer, and autumn-to gain a comprehensive understanding of the plants' responses to water stress. The experiment was carried out in a split-plot design with a completely randomized block layout at the agricultural research station in Graze, Sanandaj City. The study included three levels of irrigation: 0%, 30%, and 65% soil moisture depletion, applied in a hilling planting system with drip irrigation in a soil bed. The results of the study revealed that the lowest amount of ascorbate (44.8 mmol/g DW) was observed in the control treatment, while the highest amount (73.5 mmol/g DW) was observed in the severe water stress treatment. Similarly, the amount of glutathione (in mmol/g DW) in the severe water stress treatment showed an increase of approximately 74% compared to the control treatment. Furthermore, our findings indicated that the contents of polyphenol oxidase (PPO) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) significantly increased with the increase in water stress treatment in strawberry leaves. The highest amounts of PAL (43.3 protein units per mg) and PPO (0.58 protein units per mg) were observed in the severe water stress treatment during the summer season. The antioxidant capacity, as well as the total phenol and flavonoid content, exhibited an increase with rising water stress levels. Under severe water stress conditions, the amounts of these parameters increased by 35%, 48%, and 92%, respectively, compared to the control. The interaction effect of cultivar and year on PAL enzyme and phenolic acid content was significant, particularly in the summer and autumn seasons. The mean comparison test showed that the highest amounts of these characteristics were observed in 'Queen Eliza', with 41.67 units per mg of protein and 4.80 mg/g FW, respectively. Overall, the biochemical characteristics of the fruit were maintained and improved under low-stress deficit irrigation treatment. The changes in characteristics in leaves and fruits also indicated that 'Queen Eliza' had higher tolerance compared to the other cultivar.

Keywords: Antioxidant properties, Drought stress, Polyphenols, Strawberry, Proline.