



## بررسی صفات کیفی و تحلیل عملکرد گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) طی دوره رشد این گیاه در شرایط تنش خشکی

مهدی ابراهیمی<sup>۱\*</sup>، غلامرضا زمانی<sup>۲</sup>، زهره علیزاده<sup>۳</sup>

۱. دکترای زراعت از دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند و عضو گروه پژوهشی گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی، ایران.

۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ایران.

۳. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۶

### چکیده

به منظور تعیین تأثیر تنش خشکی بر میزان و کیفیت گل تولیدی گیاه همیشه‌بهار، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی بیرجند اجرا گردید. فاکتور اصلی شامل تنش خشکی با سه سطح آبیاری معادل ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی خاک (به ترتیب بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید) و فاکتور فرعی شامل دو نوع دارویی و زینتی همیشه‌بهار بود. تحلیل اثر تنش خشکی بر عملکرد گل طی فصل رشد (شامل ۲۲ مرحله برداشت گل)، با استفاده از مقایسه پارامترهای مدل لجستیک نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار تنش خشکی بر کاهش عملکرد گل همیشه‌بهار بود. شیب افزایش عملکرد جمع‌گلی در فاز خطی مدل لجستیک در دو سطح بدون تنش و تنش متوسط یکسان بود و با سطح تنش شدید اختلاف معنی‌داری داشت. میزان افزایش عملکرد گل هر بوته در سطح بدون تنش حدود ۰/۰۵۹ گرم در هر روز بود که در تیمار تنش شدید به ۰/۰۳۵ گرم در روز کاهش یافت؛ اما عملکرد نهایی گل در سه سطح تنش خشکی با هم اختلاف معنی‌داری داشت. افزایش شدت تنش خشکی در ابتدا منجر به افزایش و سپس کاهش میزان فلاونوئید گل همیشه‌بهار شد، به طوری که بیشترین میزان آن در تیمار تنش متوسط (۳۷/۹۸ میلی‌گرم معادل روتین در گرم عصاره) به دست آمد. بعلاوه توانایی نوع دارویی همیشه‌بهار در تولید فلاونوئیدها بیشتر از نوع زینتی آن بود. بالاترین سطح تنش خشکی همچنین منجر به کاهش میزان اسانس گل‌ها شد و میزان آن را از ۰/۱۲۰ در تیمار بدون تنش به ۰/۰۶۲ میلی‌گرم اسانس در گرم گل تازه در تیمار تنش شدید کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: روتین، روغن‌های فرار، فلاونوئید، عملکرد جمعی، مدل لجستیک.

### مقدمه

اطلاعات در مورد واکنش گیاهان دارویی به این تنش‌ها بسیار اندک است (Amiri Deh Ahmadi et al., 2014). گیاهان دارویی مخزن غنی متابولیت‌های ثانویه یعنی همان مواد مؤثره اساسی بسیاری از داروها هستند. گرچه ساخت این مواد اساساً تحت هدایت فرآیندهای ژنتیکی است، اما شرایط محیطی نیز تأثیر بسزایی در رشد گیاهان دارویی و نیز مقدار و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها از جمله آکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها روغن‌های فرار و امثال آن دارد (Omidbeigi, 2000).

بیش از ۴۵ درصد زمین‌های کشاورزی جهان در معرض تنش خشکی دائم یا مکرر قرار دارند که ۳۸ درصد جمعیت جهان در محدوده آن زندگی می‌کنند (Ashraf and Foolad, 2007). کمبود آب در دسترس گیاه از جمله مهم‌ترین عوامل اقلیمی است که بر توزیع و پراکنش گیاهان مؤثر بوده و می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه شود (Hassani and Omid Beighi, 2002). علیرغم مطالعات گسترده‌ای که در مورد تنش‌های محیطی بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی انجام شده است،

مطالعه سعی کرده‌ایم در کنار بررسی تأثیرات تنش خشکی بر برخی صفات کیفی گل همیشه‌بهار، به تحلیل روند تغییرات عملکرد گل همیشه‌بهار در پاسخ به تنش خشکی طی مراحل مختلف برداشت گل نیز بپردازیم.

## مواد و روش‌ها

### نحوه اعمال تیمارهای آزمایشی

این تحقیق در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و به‌صورت اسپلیت پلات اجرا گردید. تنش خشکی به‌عنوان عامل اصلی شامل سه سطح بدون تنش (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) بود. محاسبه حجم آب موردنیاز برای هر یک از سطوح تنش خشکی با تعیین حجم رطوبت خاک در نقطه ظرفیت زراعی و به شرحی که توضیح داده خواهد شد، صورت گرفت. بر این اساس، هنگامی که رطوبت خاک به ۵۰ درصد تیمار بدون تنش برسد، آبیاری تمامی سطوح تنش خشکی به‌طور هم‌زمان صورت می‌گیرد (Shahidi et al., 2006)؛ یعنی در این زمان سطوح بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید به ترتیب معادل ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد حجم آب خاک در نقطه ظرفیت زراعی، آب دریافت می‌کنند. انتقال آب آبیاری به زمین با استفاده از سیستم لوله‌کشی و به کمک ۲ عدد پمپ صورت گرفت و با اتصال یک عدد کنتور به لوله خروجی آب، حجم آب مورد استفاده به‌طور دقیق اندازه‌گیری می‌شد. نوع گیاه همیشه‌بهار به‌عنوان عامل فرعی شامل دو سطح همیشه‌بهار با گل‌های کم پر (نوع دارویی) و همیشه‌بهار با گل‌های پرپر (نوع زینتی) در نظر گرفته شد. برای این آزمایش ۴ تکرار در نظر گرفته شده بود.

### نحوه اجرای آزمایش

پس از آماده‌سازی زمین، ردیف‌های کاشت بافاصله ۵۰ سانتیمتر ایجاد شدند. ردیف‌های کاشت نیز به‌صورت یکسره از ابتدا تا انتهای زمین کشیده شد تا آبیاری‌های اولیه به‌طور کامل و مناسب انجام گیرد. در اواسط اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۴ بذرها بافاصله ۱۵ سانتیمتری در کنار ردیف کشت شدند تا تراکم مطلوب حدود ۱۳ بوته در مترمربع به دست آید. آبیاری‌های اولیه به‌طور کامل و با استفاده از سیفون انجام

همیشه‌بهار<sup>۱</sup> گیاهی علفی، یک‌ساله و بندرت دوساله با ساقه منشعب و سفت است که منشأ آن نواحی مدیترانه‌ای بوده و به خانواده آستراسه تعلق دارد (Omidbeigi, 2000). گل این گیاه علاوه بر مصارف خوراکی (طعم‌دهنده و رنگ دهنده غذا) دارای مواد مؤثره و ترکیباتی است که در صنعت (تهیه رنگ‌های نقاشی و نایلون صنعتی) و داروسازی نیز کاربرد دارد (Kalvatchev et al., 1997). سسکی‌ترین‌ها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، زانتوفیل‌ها، تریول‌ترین‌ها، فلاونوئیدها و روغن‌های فرار (اسانس‌ها) از جمله مهم‌ترین ترکیبات این گیاه دارویی است (Gazim et al., 2008). عمده خواص درمانی همیشه‌بهار به تنوع مواد فعال بیولوژیکی موجود در این گیاه نسبت داده می‌شود (Muley et al., 2009). ترکیبات فنولی (فلاونوئیدها و فنولیک اسیدها) و ساپونین‌ها از جمله فراوان‌ترین ترکیبات موجود در همیشه‌بهار هستند (Chakraborty, 2010). ترکیبات فنولی و بخصوص فلاونوئیدها، علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی، دارای خواص ضد میکروبی نیز می‌باشند (Preethi and Chandran, 2008). محققین در بررسی اثرات تنش خشکی بر میزان ترکیبات ثانویه گیاهان از جمله فلاونوئیدها و روغن‌های فرار، به نتایج متفاوتی دست‌یافته‌اند. درحالی‌که افزایش شدت تنش خشکی در برخی مطالعات منجر به افزایش محتوی فلاونوئیدی (Basu et al., 2010; Yuan et al., 2012) یا میزان روغن‌های فرار (Flexas and Medrano, 2002) اندام‌های گیاهی شده است، برخی محققین کاهش فلاونوئیدها (Yang et al., 2007) و روغن‌های فرار (Razmjoo et al., 2008) را در شرایط کمبود رطوبت نسبت به شرایط بهینه رطوبتی گزارش کرده‌اند.

تأثیر نامطلوب تنش خشکی در کاهش بخش عملکردی بسیاری از گیاهان دارویی از جمله اسفرزه<sup>۲</sup> (Rahimi et al., 2010)، سیاه‌دانه<sup>۲</sup> (Heidari and Jahan Tighi, 2014) و مرزه<sup>۴</sup> (Esmailpour et al., 2013) به اثبات رسیده است. علیرغم بررسی اثرات تنش خشکی بر کیفیت و عملکرد گل گیاه همیشه‌بهار توسط سایر محققین (Jafarzadeh et al., 2013; Metwally et al., 2014)، تأثیرپذیری عملکرد گل از تنش خشکی طی مراحل مختلف برداشت در طول فصل رشد تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا ما در این

<sup>3</sup>. *Nigella sativa*

<sup>4</sup>. *Satureja hortensis* L.

<sup>1</sup>. *Calendula officinalis* L.

<sup>2</sup>. *Plantago* spp.

### محاسبه حجم آب موردنیاز برای هر یک از سطوح تنش خشکی

با توجه به اینکه بیشتر حجم ریشه‌های گیاه همیشه‌بهار در لایه‌های سطحی خاک قرار دارد، فرض شد که عمده تأمین نیاز آبی گیاه از عمق ۰ تا ۳۰ سانتیمتری صورت گیرد. لذا با دانستن وزن حجمی (وزن مخصوص ظاهری) خاک (۱/۴ گرم بر سانتیمتر مکعب)، عمق (۰/۳ متر) و درصد رطوبت خاک در نقطه ظرفیت زراعی (۲۰٪)، حجم آب موردنیاز برای رسیدن خاک هر کرت به حد موردنظر قابل محاسبه بود. بر این اساس میزان آب موردنیاز برای خاک یک هکتار زمین تا عمق ۳۰ سانتیمتری در ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی محاسبه شد (جدول ۱). این اعداد را می‌توان به مساحت پلات اصلی تعمیم داد.

گرفت و علف‌های هرز نیز در کل دوره رویش گیاه با دست وجین شدند. حدود ۳۵ روز پس از کاشت یعنی هنگامی که بوته‌ها در مرحله رشد رویشی بودند، آبیاری مزرعه با اعمال تیمارهای تنش خشکی به روش حجمی آغاز گردید. قبل از شروع آبیاری به روش حجمی، ردیف‌های کاشت که قبلاً به‌طور یکسره ایجاد شده بودند تفکیک شدند، به‌طوری که طول هر کرت ۵ متر و فاصله بین بلوک‌ها ۲ متر در نظر گرفته شد. فاصله بین کرت‌های فرعی و اصلی به ترتیب ۱ و ۲ ردیف به‌صورت نکاشت بود. به‌منظور اجتناب از هدرروی آب و با اختلاط سطوح مختلف متفاوت آبیاری، فاصله بین بلوک‌ها، حاشیه‌های زمین و همین‌طور بین کرت‌های اصلی با خاک کاملاً پر شد.

جدول ۱. میزان رطوبت موردنیاز خاک برای هر یک از سطوح تنش خشکی بر مبنای میزان رطوبت خاک در نقطه ظرفیت زراعی.

Table 1. Soil moisture needed for each drought stress level according to soil moisture content at field capacity.

	۵۰ درصد تیمار بدون تنش	۲۵٪ ظرفیت زراعی	۵۰٪ ظرفیت زراعی	۷۵٪ ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی
	50% of non-stressed treatment	25% FC	50% FC	75% FC	FC
درصد رطوبت	7.5%	5%	10%	15%	20%
<b>Moisture percentage</b>					
میزان رطوبت هر هکتار (مترمکعب)	600	400	800	1200	1600
<b>Moisture content per hectare (m<sup>3</sup>)</b>					
میزان رطوبت هر پلات اصلی* (لیتر)	750	500	1000	1500	2000
<b>Moisture content per main plot* (L)</b>					

\* هر پلات اصلی شامل دو پلات فرعی است که با توجه به آبیاری یک خط نکاشت بین دو پلات فرعی و نیز نصف یک خط کاشت در دو طرف پلات اصلی و در نظر گرفتن ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر پلات به‌عنوان حاشیه، در زمان آبیاری، سطحی معادل ۲۵ مترمربع به‌عنوان یک پلات اصلی آبیاری می‌شود.

\* Each main plot consists of two subplots and considering one non-cultivated row between two subplots and half row on either side of each main plot and also 0.5 meter from the beginning and end of each plot as margins, 25 m<sup>2</sup> was considered to be one main plot at watering.

خاک می‌شود، به‌منظور کاهش تأثیر تعرق در رابطه بین تبخیر از سطح تشتک و رطوبت خاک، نمونه‌گیری از خاک زمانی آغاز شد که بوته‌های همیشه‌بهار پوشش نسبتاً مناسبی در سطح خاک ایجاد کرده بودند و بعلاوه نمونه‌گیری تا نزدیک زمان اعمال تیمار تنش خشکی ادامه داشت. با این اقدام اثر تعرق در رابطه برآزش داده‌شده بین ارتفاع تبخیر از سطح تشتک و رطوبت خاک به حداقل می‌رسد. روش کار به این

### تعیین زمان آبیاری زمین بر اساس میزان تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A

به‌منظور تعیین زمان آبیاری زمین بر مبنای میزان تبخیر از سطح تشتک تبخیر، با تعیین رابطه بین میزان رطوبت خاک و میزان تبخیر، ارتفاع آب در تشتک تبخیر نمایانگر میزان رطوبت خاک خواهد بود. به دلیل اینکه در زمین زراعی علاوه بر تبخیر از سطح خاک، تعرق گیاهان نیز باعث کاهش رطوبت

زراعی) رسید. با توجه به اینکه قبلاً میزان رطوبت در نقطه ظرفیت زراعی ۲۰ درصد تعیین شده بود، رطوبت در ۵۰ درصد تیمار بدون تنش قابل محاسبه بود (جدول ۱).

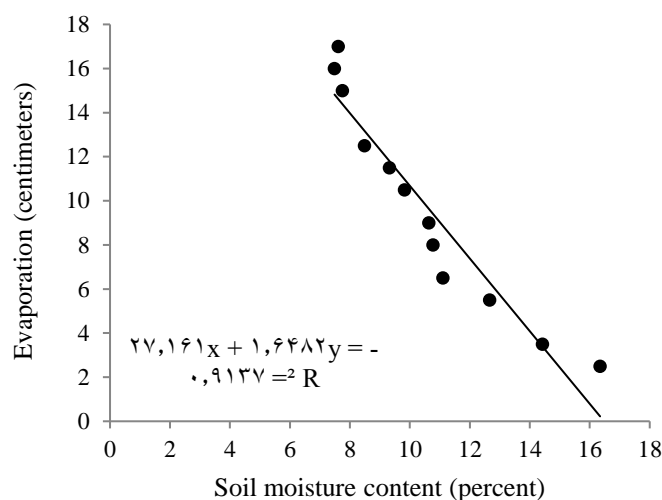
با در نظر گرفتن نقاط مربوط به ارتفاع تبخیر بر روی محور X و درصد رطوبت متناظر این نقاط بر روی محور Y ها و ترسیم نقاط به دست آمده بر روی محور مختصات، یک نمودار خطی ترسیم شد (شکل ۱). با قرار دادن درصد رطوبت خاک در ۵۰ درصد تیمار بدون تنش (۷/۵ درصد) بجای متغیر X در این معادله ارتفاع تبخیر در این حد از رطوبت خاک به میزان ۱۴/۸۵ سانتیمتر به دست خواهد آمد. لذا پس از هر بار آبیاری هنگامی که حدود ۱۵ سانتیمتر آب از تشتک تبخیر کلاس A، تبخیر می‌شد، آبیاری تیمارهای تنش خشکی صورت می‌گرفت.

صورت بود که پس از آبیاری کامل زمین، تشتک تبخیر تا ارتفاع مشخصی از آب پر شد و نمونه‌های خاک به فاصله زمانی ۲ تا ۳ روز با اوگر از عمق ۰ تا ۳۰ سانتیمتری خاک گرفته و داخل پلاستیک فریزر بلافاصله به آزمایشگاه خاکشناسی منتقل و با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. نمونه‌ها سپس در داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد طی ۲۴ ساعت خشک و مجدداً توزین شدند. میزان رطوبت هر نمونه سپس با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

درصد رطوبت نمونه خاک =

$$100 \times \frac{(\text{وزن خاک مرطوب}) - (\text{وزن خاک خشک})}{\text{وزن خاک مرطوب}}$$

هم‌زمان با هر نمونه‌گیری، میزان تبخیر از سطح تشتک نیز یادداشت شد. نمونه‌گیری تا زمانی ادامه داشت که رطوبت خاک به حدود ۵۰ درصد تیمار بدون تنش (۷/۵ درصد ظرفیت



**Fig. 1. The relationship between evaporation from class A evaporation pan and soil moisture content to determine**  
شکل ۱. رابطه میزان تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A و درصد رطوبت خاک به منظور تعیین ارتفاع تبخیر در زمان رسیدن رطوبت خاک به ۵۰ درصد تیمار بدون تنش.  
the evaporation height when soil moisture reaches 50% of the non-stressed treatment.

بود. دو خط وسط هر کرت با حذف حدود نیم متر از ابتدا و انتهای هر خط برای جمع‌آوری گل‌ها انتخاب شدند. گل‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آون فن دار در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد بسته به حجم گل طی ۲ تا ۳ روز در تاریکی خشک شدند. عملکرد گل شامل مجموع وزن خشک گل‌های جمع شده طی دوره گلدهی گیاه بود. با توجه به اینکه تراکم

#### نحوه محاسبه عملکرد گل

جمع‌آوری گل‌های همیشه‌بهار از حدود ۲ هفته پس از اعمال تنش آغاز گردید و تا پایان دوره گلدهی گیاه نیز ادامه داشت. در این مدت‌زمان، برداشت گل‌های باز شده هنگامی که هنوز وارد مرحله تولید بذر نشده بودند بافاصله زمانی حدود یک هفته انجام شد که در مجموع شامل ۲۲ مرحله برداشت گل

برازش داده شد. سپس برای تعیین نکویی این برازش‌ها، از سه معیار زیر استفاده شد:

۱. جذر میانگین مربعات خطا (RMSE): که هر چه این

مقدار کمتر باشد، دقت مدل در پیش‌بینی بیشتر است.

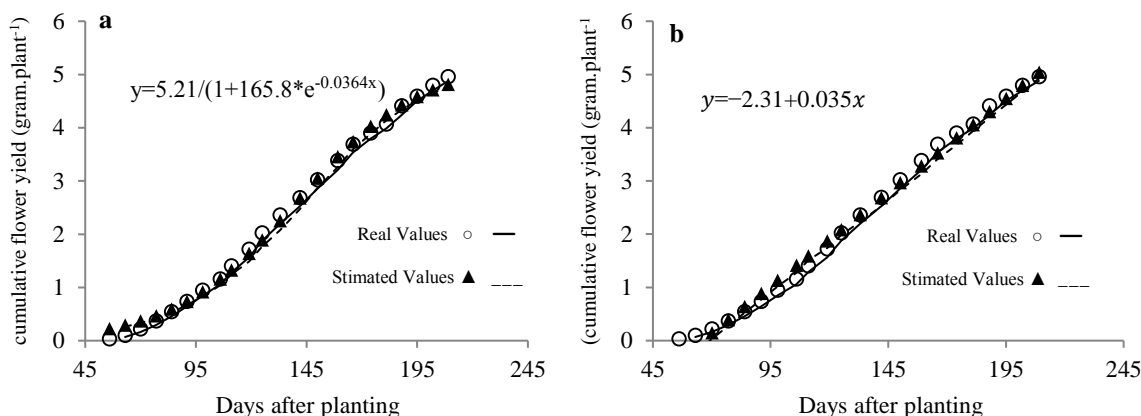
۲. ضریب تبیین ( $R^2$ ): هر چه مقدار ضریب تبیین بیشتر باشد، مدل درصد تغییرات در تجمع عملکرد گل را به‌وسیله روز پس از کاشت بهتر توجیه می‌کند.

۳. ضرایب رگرسیون ساده خطی (a,b) بین مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل و مقادیر واقعی: ضریب a نشان‌دهنده مقدار انحراف خط رگرسیون از مبدأ مختصات و ضریب b نشان‌دهنده مقدار اریب خط رگرسیون از خط یک‌به‌یک می‌باشد. چنانچه نقاط پیش‌بینی شده روی خط یک‌به‌یک قرار گیرند، مدل ایده آل خواهد بود. خط یک‌به‌یک دارای عرض از مبدأ صفر ( $a=0$ ) و شیب ۴۵ درجه ( $b=1$ ) است (Ghadiry et al., 2011).

با مقایسه این سه معیار می‌توان نسبت به انتخاب مدل بهتر از بین دو مدل رگرسیون خطی و رگرسیون غیرخطی لجستیک برای مقایسه عملکرد جمعی گل بین سطوح تنش خشکی استفاده کرد. نتایج حاصل از فرآیند مقایسه دو مدل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS به دست آمد.

کاشت روی ردیف برای تمامی کرت‌ها کاملاً یکسان نبود، تعداد بوته‌هایی که گل‌های آن جمع‌آوری شده بود برای هر کرت شمارش شد و عملکرد گل برحسب گرم در بوته محاسبه و گزارش گردید؛ اما به‌منظور مقایسه بهتر تأثیر سطوح خشکی بر عملکرد گل همیشه بهار در طی دوره رشد این گیاه، عملکرد جمعی گل در هر یک از مراحل برداشت محاسبه گردید. با توجه به این اصل که استفاده از یک مدل و مقایسه پارامترهای آن بسیار بهتر از مقایسه میانگین‌های تیمارهای مختلف در هر برداشت و یا در برداشتهای مختلف است (Soltani, 2010)، برای مقایسه سطوح تنش خشکی از مقایسه مدل‌های رگرسیونی استفاده شد. برای تعیین مدل رگرسیونی مناسب جهت برازش بر داده‌های حاصل از عملکرد جمعی گل، مدل رگرسیون خطی ( $y=a + bx$ ) و مدل رگرسیون لجستیک ( $y=a / (1 + be^{-cx})$ ) باهم مقایسه شدند. برای این منظور ابتدا هر یک از این دو مدل بر داده‌های عملکرد گل برازش داده شدند و مقادیر پیش‌بینی شده برای هر یک از زمان‌های اندازه‌گیری عملکرد جمعی گل بر اساس این دو مدل تعیین گردید. شکل ۲ روند تغییرات عملکرد جمعی گل و توصیف آن با دو مدل رگرسیونی خطی و غیرخطی لجستیک را نشان می‌دهد.

در ادامه مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل و مقادیر واقعی در برابر هم ترسیم شدند و یک رگرسیون خطی بر این داده‌ها



شکل ۲. روند تغییرات عملکرد جمعی گل در طی زمان با استفاده از مدل لجستیک (a) و مدل خطی (b) به همراه مقادیر واقعی آن.

Fig. 2. Trend of cumulative flower yield during the time using logistic (a) and linear (b) models.

تصادفی انتخاب شده بودند، کف بر شدند و پس از انتقال به آون فن دار در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. بوته‌های خشک شده با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و بر مبنای گرم در بوته وزن خشک گیاه محاسبه و گزارش شد.

### تعیین میزان فلاونوئیدها

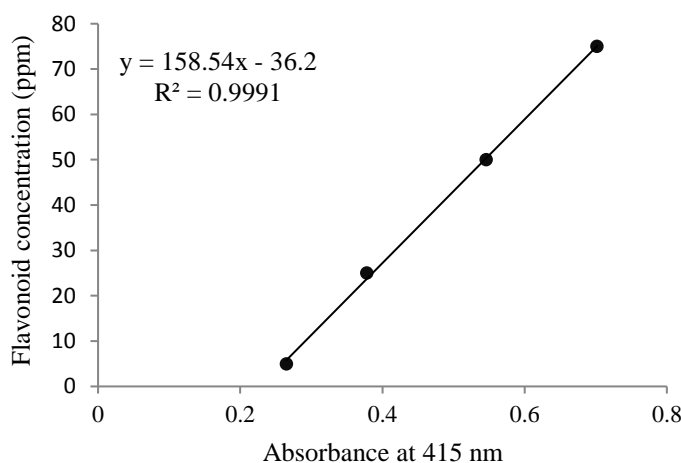
به منظور تعیین میزان فلاونوئیدها، یک نمونه تصادفی ۲۰ گرمی از گل‌های جمع‌آوری شده از هر کرت با استفاده از خردکن مکانیکی پودر و به مدت ۲۴ ساعت در حلال اتانول/آب (۷۰:۳۰ حجم/حجم) در دمای محیط هم زده شدند. پس از این مدت زمان مخلوط به دست آمده از فیلتر کاغذی عبور داده شد و محلول به دست آمده در پتری‌های شیشه‌ای جمع‌آوری گردید. با قرار دادن این ظروف در آون ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸ ساعت، حلال به تدریج تبخیر و عصاره خشک داخل پتری جمع‌آوری گردید. در این روش عملکرد عصاره بر حسب گرم عصاره در گرم وزن خشک گل تعیین گردید.

به منظور تعیین پارامترهای مدل لجستیک برای مقایسه عملکرد تجمعی گل بین سطوح مختلف تنش خشکی، از روش مطلوب سازی تکراری (Iterative Optimization) با کمک رویه PROC NLIN در نرم‌افزار SAS استفاده شد. در این روش با هر بار وارد کردن مقادیر اولیه پارامترها، مقادیر نهایی آن با روش کمترین توان‌های دوم تخمین زده می‌شود (Soltani, 2012). تغییر مقادیر اولیه تا زمانی انجام می‌گیرد که بهترین برآورد از پارامتر به دست آید. بهترین برآورد پارامترهای مدل بر اساس خطای معیار (SE) کمتر پارامترها و جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) کمتر تجزیه رگرسیون مشخص می‌شود.

تعیین مقادیر تقریبی پارامترها برای تعیین نهایی آن‌ها توسط نرم‌افزار SAS، با نرم‌افزار CurveExpert 1.3 صورت گرفت که البته به مقادیر نهایی تعیین شده توسط SAS بسیار نزدیک بود.

### تعیین وزن خشک گیاه

در انتهای دوره رشدی گیاه و زمانی که بوته‌ها تقریباً خشک شده بودند، تعداد ۳ عدد بوته از هر کرت که قبلاً به طور



شکل ۳. منحنی استاندارد تعیین غلظت فلاونوئید کل. با استفاده از معادله این منحنی، در صورت جایگذاری میزان جذب نمونه عصاره گل بجای مقدار X، غلظت فلاونوئید کل عصاره تعیین خواهد شد. با توجه به اینکه غلظت عصاره گل همیشه بهار در هر میلی‌لیتر نمونه اندازه‌گیری شده در نهایت ۰/۵ میلی‌گرم بوده است، غلظت گزارش شده پس از انجام محاسبات بر اساس میلی‌گرم معادل روتین در هر گرم عصاره به دست آمده است.

Fig. 3. Standard curve determining the concentration of total flavonoid content. In the equation, if we put the absorbance of sample extract instead of X variable, total flavonoid content is determined. Considering that marigold extract per measured sample has been 0.5 mg, after calculation, final reported concentration is presented in mg rutin equivalent per g flower extract.

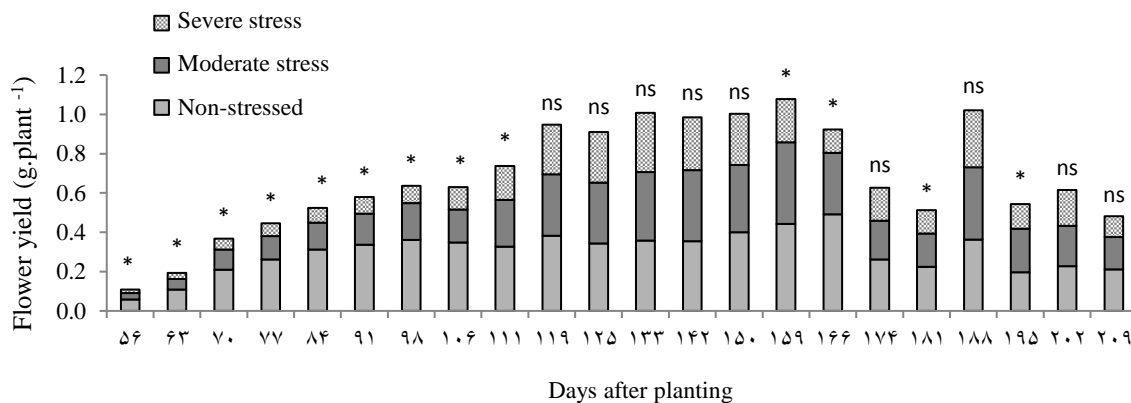
از مراحل برداشت گل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بعلاوه عملکرد گل در کل دوره گلدهی نیز در هر دو نوع همیشه‌بهار به لحاظ آماری باهم یکسان بودند (جدول ۴). اما نتایج تجزیه واریانس عملکرد گل همیشه‌بهار در مراحل مختلف برداشت گل مشخص نمود که اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش خشکی طی ۹ مرحله اولیه برداشت گل (۱۱۱ روز پس از کشت) وجود داشت، درحالی‌که پس از این مرحله اختلافات عملکرد گل بین سطوح مختلف آبیاری معنی‌دار نبودند (غیر از شانزدهمین برداشت در ۱۶۶ روز پس از کشت) (نتایج نشان داده نشده است)؛ اما مقایسه میانگین سطوح تنش خشکی در هر یک از مراحل برداشت گل نشان داد که در هجدهمین و بیستمین مرحله برداشت (به ترتیب معادل ۱۸۱ و ۱۹۵ روز پس از کاشت) نیز بین سطوح خشکی اختلاف وجود داشت (شکل ۴). لازم به ذکر است که علیرغم سیر نزولی عملکرد گل در مراحل انتهایی برداشت گل، بارندگی شدید در تاریخ ۹۴/۰۸/۱۰ به میزان بیش از ۸ میلی‌متر در این روز، منجر به افزایش عملکرد گل در نوزدهمین برداشت گل و عدم معنی‌داری اختلاف بین سطوح تنش خشکی شد.

در ادامه جهت تعیین میزان فلاونوئید کل، از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم (Bousselsela et al., 2012) با مقداری تغییرات استفاده شد. برای این منظور از غلظت ۰/۰۰۵ گرم عصاره گل در یک میلی‌لیتر حلال اتانول/آب (۳۰:۷۰ حجم/حجم) استفاده شد. تهیه محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۵، ۲۵، ۵۰ و ۷۰ پی‌پی‌ام روتین از غلظت اولیه (۵۰۰ پی‌پی‌ام) صورت گرفت. لوله‌های آزمایش حاوی محلول‌های استاندارد و نیز نمونه‌های عصاره به مدت ۴۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و سپس جذب نور در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از جذب محلول‌های استاندارد منحنی استاندارد غلظت روتین ترسیم و بر اساس معادله خط به دست آمده، غلظت فلاونوئید کل در عصاره‌ها اندازه‌گیری شد (شکل ۳). غلظت نهایی فلاونوئید به صورت میلی‌گرم معادل روتین در گرم عصاره گزارش شد.

## نتایج و بحث

### عملکرد گل همیشه‌بهار

بر اساس نتایج تجزیه واریانس و به دنبال آن انجام مقایسه میانگین، بین دو نوع گیاه همیشه‌بهار مورد بررسی در هیچ‌یک



شکل ۴. نمودار عملکرد گل سطوح تنش خشکی در هر برداشت گل طی دوره رشد همیشه‌بهار. در هر ستون، \* و ns، به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و عدم معنی‌داری اختلاف سطوح تنش خشکی بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) میباشد.

Fig. 4. Histogram of flower yield of drought stress levels in each harvest, during the growth period of marigold. In each column, \* and ns, indicates significant at 5% level and non-significant difference, according to Least Significant Difference (LSD) test.

آن با خط یک‌به‌یک است (جدول ۲). اما مقدار RMSE کمتر و  $R^2$  بالاتر در مدل رگرسیون غیرخطی لجستیک نسبت به مدل خطی نشان داد که مدل لجستیک روند تغییرات جمععی عملکرد گل در طی زمان را نسبت به مدل خطی بهتر توصیف می‌کند (جدول ۲).

بررسی ضرایب رگرسیون خطی (a و b) مقادیر پیش‌بینی شده در برابر مقادیر واقعی نشان‌دهنده عدم انطباق شیب این خط با شیب خط یک‌به‌یک در هر دو مدل خطی و نیز مدل غیرخطی لجستیک بود. هرچند عرض از مبدأ هر دو مدل با صفر اختلاف معنی‌داری نداشت که نشان‌دهنده انطباق

جدول ۲. جذر میانگین مربعات خطا (RMSE)، ضریب تبیین ( $R^2$ ) و ضرایب رگرسیون (a,b) مدل‌های رگرسیونی خطی و غیرخطی لجستیک برای توصیف روند تغییرات عملکرد جمععی و روز پس از کاشت در همیشه‌بهار.

**Table 2. Root-mean-square error (RMSE), the coefficient of determination ( $R^2$ ) and regression coefficients (a,b) of linear and non-linear logistic models for explaining the trend of cumulative flower yield and days after planting in pot marigold.**

Model	مدل	مدل برازش شده		رگرسیون یک‌به‌یک			
		Fitted model		1:1 regression			
		$R^2$	RMSE	a±SE	b±SE	$R^2$	RMSE
linear	خطی	0.992	0.150	0.0170	0.9924	0.992	0.149
non-linear logistic	غیرخطی لجستیک	0.996	0.110	0.0670	0.9806	0.996	0.100

در فرمول فوق، a و c ضرایب مدل لجستیک هستند. بر این اساس، افزایش عملکرد جمععی گل بین دو سطح بدون تنش و تنش متوسط در فاز خطی باهم اختلاف معنی‌داری ندارند، اما بالاترین سطح تنش خشکی با هر دو سطح قبل از آن اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (جدول ۳).

با استفاده از مدل لجستیک، پارامترهای مربوط به این مدل برای سطوح مختلف تنش خشکی تعیین شد (جدول ۳). شیب این مدل در فاز خطی افزایش وزن خشک جمععی گل که به صورت فرمول زیر تعریف می‌شود، برای مقایسه سطوح تنش خشکی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۳).  

$$(ac)/4 = \text{شیب مدل در فاز خطی افزایش عملکرد گل}$$

جدول ۳. مقادیر پارامترهای مدل لجستیک برای توصیف روند تغییرات عملکرد جمععی گل سطوح مختلف تنش خشکی در طی زمان.

**Table 3. Parameters values of logistic model for explaining the trend of cumulative flower yield of different drought stress levels over time.**

		بدون تنش	تنش متوسط	تنش شدید
		Non-stressed	Moderate stress	Severe stress
پارامتر a	Parameter a	6.86	5.2263	3.4567
حدود اطمینان ۹۵٪	95% confidence interval	6.4308-7.3077	4.9767-5.4758	3.2506-3.6627
پارامتر b	Parameter b	107.8	223.4	348.7
حدود اطمینان ۹۵٪	95% confidence interval	59.7341-155.8	144-302.7	152.1-545.3
پارامتر c	Parameter a	0.0347	0.0374	0.0409
حدود اطمینان ۹۵٪	95% confidence interval	0.0304-0.039	0.0343-0.0406	0.0361-0.0457
شیب مدل در فاز خطی	Model slope in linear phase	0.0595	0.0488	0.0353
حدود اطمینان ۹۵٪	95% confidence interval	0.0488-0.0712	0.0426-0.0556	0.0293-0.0418



که منجر به کاهش رشد گیاه خواهد شد (Farooq et al., 2009).

متوالی و همکاران (Metwally et al., 2013)، کاهش ویژگی‌های رشدی و عملکرد گل گیاه دارویی همیشه‌بهار در بالاترین حد تنش خشکی (۲۵٪ ظرفیت زراعی) را به قرارگیری گیاه در معرض سطوح خسارت زای کمبود آب نسبت داده‌اند که می‌تواند سبب کاهش فشار تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول‌ها بخصوص در ساقه و برگ شود (Merrill and Eckard, 1971). با کوچک‌تر شدن اندازه برگ‌ها، ظرفیت به دام انداختن نور کاهش یافته و فتوسنتز کل کاهش می‌یابد؛ یعنی در شرایط کمبود آب، فتوسنتز با کاهش رشد و کارایی گیاه کاهش خواهد یافت (Hsiao, 1973).

لذا شاید بتوان این‌طور نتیجه گرفت که در این مطالعه خسارت وارده به عملکرد گل که بخش مورد استفاده دارویی همیشه‌بهار است، در نتیجه نقصان صفات مرتبط با عملکرد گیاه بوده است که خود به دلیل کاهش رشد گیاه در شرایط محدودیت آب است. همبستگی موجود بین عملکرد گل با وزن خشک گیاه (\*\*۰/۵۱)، این موضوع را تأیید می‌نماید. از طرفی با توجه به همبستگی معنی‌دار بین عملکرد گل با وزن خشک، یکسان بودن شیب افزایش عملکرد گل در فاز خطی را شاید بتوان به عدم اختلاف معنی‌دار زیست‌توده گیاهی در دو سطح بدون تنش (۱۹/۱۷ گرم در بوته) و تنش متوسط (۱۷/۳۷ گرم در بوته) نسبت داد (جدول ۴).

هرچند این میزان اختلاف در نهایت منجر به تفاوت در عملکرد نهایی گل شده است. از طرفی میزان زیست‌توده گیاهی در بالاترین سطح تنش (۱۰/۳۲ گرم در بوته) خشکی با هر دو سطح قبل از آن تفاوت معنی‌دار دارد که با توجه به آنچه گفته شد، می‌تواند دلیلی بر کمتر بودن شیب افزایش عملکرد آن در فاز خطی نسبت به دو سطح دیگر تنش خشکی باشد (جدول ۴).

#### میزان کل فلاونوئیدها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، میزان فلاونوئیدهای گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. با افزایش خشکی از شاهد بدون تنش به سطح متوسط تنش خشکی، میزان فلاونوئیدها با ۵۵٪ افزایش از ۲۵/۱۴ به ۳۸/۹۷ میلی‌گرم معادل روتین بر گرم عصاره رسید؛ اما در بالاترین سطح تنش خشکی میزان فلاونوئیدها مجدداً کاهش یافت،

با توجه به اینکه شیب مدل در فاز خطی میزان افزایش عملکرد تجمعی گل را به ازای هرروز نشان می‌دهد، افزایش عملکرد گل هر بوته در سطح بدون تنش حدود ۰/۰۵۹ گرم در هرروز بوده است که در تیمار تنش شدید به ۰/۰۳۵ گرم در روز کاهش یافته است (جدول ۳).

در معادله رشد لجستیک، پارامتر  $a$  حداکثر مقدار عملکرد تجمعی گل را مشخص می‌نماید که بر اساس حدود اطمینان آن در جدول ۳، حداکثر عملکرد تجمعی گل در هر یک از سطوح تنش خشکی به‌طور معنی‌داری با دو سطح دیگر اختلاف دارد.

تیمار آبیاری بدون تنش با عملکرد ۶/۸۶ گرم در هر بوته بیشترین و تیمار تنش خشکی شدید با ۳/۴۶ گرم در هر بوته، کمترین میزان عملکرد گل را در طول فصل رشد به خود اختصاص داده‌اند.

پارامترهای  $b$  و  $c$  نیز ضرایب معادله لجستیک هستند که به کمک آن‌ها می‌توان مقدار اولیه عملکرد گل  $(a/1+b)$  و نیز همان‌طور که اشاره شد، شیب مدل در فاز خطی افزایش عملکرد گل  $(ac/4)$  را محاسبه کرد.

مطابق با این نتایج، در بررسی اثر کم‌آبی و نیتروژن روی خصوصیات رشدی و عملکرد گیاه دارویی همیشه‌بهار (Rahmani et al., 2009)، محققین به این نتیجه رسیدند که کمترین سطح تنش خشکی (آبیاری پس از ۴۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A)، منجر به دستیابی به بیشترین میزان عملکرد گل خشک (۲۴۰۶ کیلوگرم در هکتار) خواهد شد. تنش خشکی در گیاهان می‌تواند به بی‌نظمی‌های فیزیولوژیکی منجر شود که کاهش در فتوسنتز و تعرق از جمله این تغییرات است (Sarker et al., 2005).

در گیاهان معطر نیز تغییرات معنی‌دار در عملکرد و روغن‌های فرار تحت شرایط تنش دور از انتظار نخواهد بود (Singh and Ramesh, 2000). لذا با قطعیت بالایی می‌توان گفت که محدود شدن ویژگی‌های مرتبط با رشد گل‌ها تحت شرایط کمبود آب می‌تواند به دلیل قرارگیری در معرض سطوح خسارت زای خشکی باشد که منجر به کاهش آماس و در نتیجه کاهش رشد و محدود شدن توسعه سلول‌ها خواهد شد (Scalia et al., 2009). بعلاوه تنش خشکی اسیمیلاسیون نوری و ساخت متابولیت‌های لازم برای تقسیم سلولی را نیز کاهش می‌دهد. چنین تغییراتی منجر به اختلال در تقسیم میتوز و نیز طویل شدن و توسعه سلولی می‌شود

به‌طوری‌که میزان آن حتی از شاهد بدون تنش نیز کمتر بود (۲۲/۹۶ میلی‌گرم معادل روتین بر گرم عصاره)؛ اما علاوه بر عامل تنش خشکی، نوع گیاه نیز بر میزان فلاونوئیدهای همیشه‌بهار تأثیرگذار بود. میزان فلاونوئیدها در تیپ دارویی

(۳۲/۶۳ میلی‌گرم معادل روتین بر گرم عصاره) نسبت به تیپ زینتی (۲۵/۴۱ میلی‌گرم معادل روتین بر گرم عصاره) حدود ۲۸٪ بیشتر بود.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و نوع گیاه بر وزن خشک گیاه، محتوی فلاونوئید و میزان اسانس گل گیاه همیشه‌بهار.

Table 4. Mean comparisons of the effect of water stress and plant type on plant dry weight, flower flavonoid content and flower essential oil of pot marigold.

Treatment	تیما	وزن خشک گیاه Plant dry weight g.plant <sup>-1</sup>	محتوی فلاونوئید Flavonoid content mg rutin equivalent.g <sup>-1</sup> extract	روغن‌های فرار Essential oil mg. g <sup>-1</sup> fresh flower
<b>Drought stress</b>	تنش خشکی			
Non-stressed	بدون تنش	19.17 <sup>a</sup>	25.14 <sup>b</sup>	0.120 <sup>a</sup>
Moderate water stress	تنش خشکی	17.37 <sup>a</sup>	38.97 <sup>a</sup>	0.127 <sup>a</sup>
	متوسط			
Severe water stress	تنش خشکی شدید	10.32 <sup>b</sup>	22.96 <sup>b</sup>	0.062 <sup>b</sup>
<b>Plant type</b>	نوع گیاه			
Medicinal type	تیپ دارویی	15.39 <sup>a</sup>	32.63 <sup>a</sup>	0.123 <sup>a</sup>
Ornamental type	تیپ زینتی	15.85 <sup>a</sup>	25.41 <sup>b</sup>	0.083 <sup>b</sup>
C.V (%)	ضریب تغییرات (%)	12.85	26.55	32.67

در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) باهم تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column and for each treatment, means with at least one similar letter are not significantly different, according to Least Significant Difference (LSD) test.

فلاونوئیدی، وجود چندین گروه هیدروکسیل متصل به یک حلقه آروماتیک به مولکول این توانایی را می‌دهد که با دادن پروتون به رادیکال‌ها، بتواند زنجیره فعالیت‌های اکسیداسیون را بشکند (Franco et al., 2008).

شرایطی که باعث غیرفعال شدن آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی می‌شود، می‌تواند منجر به افزایش بیوسنتز فلاونوئیدها شود. این موضوع نشان می‌دهد که فلاونوئیدها می‌توانند یک سیستم رویش ثانویه ROS را در گیاهانی که تحت تنش طولانی‌مدت قرار دارند، به وجود آورند (Fini et al., 2011). لذا احتمال می‌رود با افزایش شدت تنش خشکی، با تحریک سایر مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه، سهم فلاونوئیدها در رویش ترکیبات اکسیداتیو کاهش یافته و در نتیجه از میزان این ترکیبات کاسته شده است.

قربانلی و همکاران (Ghorbanli et al., 2012) با بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی کتان<sup>۱</sup> از جمله فلاونوئیدها، به نتایجی مشابه نتایج آزمایش ما دست یافتند. در بررسی این محققین، با افزایش تنش خشکی از سطح ظرفیت زراعی به حدود ۶۶٪ ظرفیت زراعی، میزان فلاونوئیدهای گیاه افزایش معنی‌داری را نشان داد؛ اما در ادامه و هنگامی که شدت تنش به حدود ۳۳٪ ظرفیت زراعی رسید، از میزان فلاونوئیدها کاسته شد، به‌طوری‌که مقدار آن با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. این محققین چنین نتیجه گرفتند که افزایش اولیه میزان فلاونوئیدها به دلیل سطوح پایین فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه بوده است و در واقع فلاونوئیدها به‌عنوان یکی از اولین سطوح دفاعی در مقابل ترکیبات اکسیدکننده وارد عمل شده‌اند. در ترکیبات

<sup>1</sup>. *Linum usitatissimum* L.

شرایط خشکی باشد (Flexas and Medrano, 2002). در یک نتیجه‌گیری کلی، شبیه و همکاران (Shabih et al., 1999) گزارش کردند که چنانچه کمبود رطوبت رشد و بقای گیاه را محدود نکند، تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله روغن‌های فرار حتی می‌تواند توسط شرایط محیطی تنش‌زا تحریک نیز بشود.

بر این اساس و با توجه به همبستگی معنی‌دار و مثبت بین میزان اسانس با وزن خشک بوته (\* $0/43$ ) در آزمایش ما، می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که احتمالاً تأثیر منفی تنش خشکی بر رشد گیاه منجر به کاهش تولید روغن‌های فرار در همیشه‌بهار شده است. از طرفی کمتر بودن محتوی روغن‌های فرار در تیپ زینتی نسبت به تیپ دارویی می‌تواند به پتانسیل پایین‌تر این نوع از همیشه‌بهار برای تولید این ترکیبات مرتبط باشد. پیم و همکاران (Paim et al., 2010) معتقدند که محتوی روغن‌های فرار همیشه‌بهار با توجه به منطقه رویش و نوع گیاه می‌تواند بین  $0/01$  تا  $0/004$  میلی‌لیتر در گرم متغیر باشد.

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، عملکرد گل همیشه‌بهار به‌عنوان جزء مورد‌استفاده دارویی این گیاه می‌تواند تحت تأثیر تنش خشکی قرار گیرد. مدل لجستیک نسبت به مدل خطی، تحلیل بهتری از افزایش تجمعی عملکرد گل طی دوره رشد همیشه‌بهار ارائه داد که بر اساس آن، شیب افزایش عملکرد گل در طی زمان با افزایش شدت خشکی، کاهش یافت. کاهش شیب افزایش عملکرد تجمعی گل در نهایت منجر به اختلاف معنی‌دار عملکرد گل در کل فصل رویش بین سطوح تنش خشکی شد و کمترین و بیشترین میزان عملکرد گل به ترتیب در تیمار تنش شدید و تیمار بدون تنش به دست آمد. به نظر می‌رسد که کاهش عمومی رشد گیاه در نتیجه کمبود رطوبت احتمالاً دلیل اصلی افت عملکرد گل گیاه بوده است.

تنش خشکی علاوه بر کمیت گل، عوامل مؤثر بر کیفیت گل از جمله میزان فلاونوئیدها و درصد اسانس را نیز تحت تأثیر قرار داد. علیرغم اینکه با افزایش شدت خشکی به سطح متوسط آن، میزان فلاونوئیدهای گل همیشه‌بهار افزایش یافت و درصد اسانس آن نیز تغییری نکرد، اما در بالاترین شدت

اما یانگ و همکاران (Yang et al., 2007) بایان اینکه بین فعالیت آنزیم PAL به‌عنوان یک آنزیم کلیدی در تعیین سرعت واکنش در فرآیند بیوسنتز فلاونوئیدها (Bin et al., 2000)، با محتوی فلاونوئیدها به‌طور مثبت همبستگی وجود دارد، کاهش محتوی فلاونوئیدها در شرایط تنش خشکی را به کاهش فعالیت آنزیم PAL در این شرایط نسبت دادند. با توجه به معنی‌دار نبودن اثر متقابل بین فاکتور تنش خشکی و نوع گیاه در مطالعه ما، بالاتر بودن میزان فلاونوئیدها در میانگین سطوح خشکی در تیپ دارویی گیاه همیشه‌بهار احتمالاً جزء ویژگی‌های خاص این تیپ است. تفاوت در میزان فلاونوئید ارقام همیشه‌بهار توسط سایر محققین گزارش شده است (Król, 2012). برخی از محققین معتقدند که میزان بالاتری از ترکیبات فلاونوئیدی در گل‌های زبانه‌ای همیشه‌بهار وجود دارند (Branzila, 2004). گرچه برخی نیز معتقدند که هیچ‌گونه رابطه ساده‌ای بین محتوی این ترکیبات و ساختار گل‌ها در همیشه‌بهار وجود ندارد (Raal and Kirsipuu, 2011).

### درصد اسانس

بر اساس نتایج تجزیه واریانس صفت درصد اسانس، هم تنش خشکی و هم نوع گیاه تأثیر معنی‌داری بر این صفت داشته‌اند. مقایسه میانگین سطوح تنش خشکی نشان می‌دهد که افزایش خشکی منجر به کاهش درصد اسانس همیشه‌بهار شده است. کمترین میزان اسانس ( $0/127$  میلی‌گرم در گرم گل تازه) در تیمار تنش متوسط ( $50$  درصد ظرفیت زراعی) به دست آمد که با تیمار شاهد بدون تنش تفاوت معنی‌داری نداشت؛ اما با افزایش شدت تنش ( $25$  درصد ظرفیت زراعی) میزان اسانس گل‌های همیشه‌بهار به کمترین میزان خود رسید ( $0/062$  میلی‌گرم در گرم گل تازه) که با هر دو سطح خشکی قبل از خود اختلاف معنی‌داری داشت. میزان اسانس گل‌های دو نوع همیشه‌بهار نیز متفاوت بود، به‌طوری‌که نوع دارویی همیشه‌بهار تقریباً  $2$  برابر نوع زینتی آن اسانس داشت. کاهش در محتوی روغن‌های فرار و نیز تغییر در ترکیب آن‌ها در نتیجه خشکی در نعنا<sup>۱</sup> (Charles et al., 1990) و ریحان<sup>۲</sup> (Simon et al., 1992) نیز گزارش شده است. کاهش در محتوی روغن‌های فرار می‌تواند به دلیل برهم خوردن فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌ها و سرکوب رشد گیاه در

<sup>2</sup> *Ocimum basilicum*

<sup>1</sup> *Mentha piperita*

### قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند مراتب قدردانی خود را از دانشگاه بیرجند برای حمایت مالی از انجام این طرح اعلام دارند. در ضمن بدین‌وسیله از آقایان دکتر مجید جامی الاحمدی، دکتر علی اله رسانی و مهندس علیرضا نخعی و همین‌طور سرکار خانم مهندس سهیلا بهروش برای راهنمایی در انجام آزمایش‌ها و کمک در فراهم آوری تجهیزات آزمایشگاهی تشکر می‌شود.

تنش خشکی هم میزان فلاونوئیدها و هم درصد اسانس به‌شدت کاهش یافت. لذا گرچه کاهش عملکرد گل همیشه‌بهار در مواجهه با شرایط کمبود رطوبت اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد، اما این امکان وجود دارد که با اعمال سطح مشخصی از تنش خشکی در مجموع با افزایش کیفیت گل این گیاه دارویی علاوه بر جبران کاهش کمیت آن، بتوانیم در میزان آب مصرفی نیز صرفه‌جویی نماییم.

### منابع

- Amiri Deh Ahmadi, S.R., Parsa, M., Bannayan, M., Nassiri Mahallati, M., Deihimfard, R., 2014. Yield gap analysis of chickpea under semi-arid conditions: A simulation study. *Journal of Plant Production*. 8, 531-548.
- Ashraf, M., Foolad, M., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59, 206-216.
- Basu, S., Roychoudhury, A., Paromita Saha, P., and Sengupta, D.N., 2010. Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. *Plant Growth Regulation*. 60, 51-59.
- Bin, J.H., Jiang, S., Huang, S.Q., Pan, R.C., 2000. The relationship between methyl jasmonate induced anthracnose resistance of tobacco seedlings and phenylalanine ammonia lyase activity and cell wall substances. *Acta phytophysiological Sinica*. 26, 1-6.
- Bousselsela, H., Benhouda, A., Yahia, M., Benbia, S., Ghecham, A., Zidani, A., 2012. In vitro evaluation of antioxidant and antibacterial activities of extracts of *Hertia cheirifolia*'s leaves. *Natural Science*. 4, 825-831.
- Branzila, I., 2004. The dynamics of flavonoid and polyphenol content in ontogenesis in *Calendula officinalis* L. *Cercetari in Pomicultura*. 3, 243-251.
- Chakraborty, G.S., 2010. Phytochemical screening of *Calendula Officinalis* Linn leaf extract by TLC. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*. 1, 131-134.
- Charles, D.J., Joly, R.J., Simon, J.E., 1990. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry*. 29, 2837-2840.
- Esmailpour, B., Jalilvand, P., Hadian, J., 2013. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Agroecology*. 5, 169-177. [In Persian with English summary].
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29, 185-212.
- Fini, A., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F., Tattini, M., 2011. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signaling & Behavior*. 6, 709-711.
- Flexas, J., Medrano, H., 2002. Energy dissipation in C3 plants under drought. *Functional Plant Biology*. 29, 1209-1215.
- Franco, D., Sineiro, J., Rubilar, M., Sanchez, M., Jerez, M., 2008. Polyphenols from plant materials: Extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 7, 3210-3216.
- Gazim, Z., Rezende, C., Fraga, S., Dias Filho, B., Nakamura, C., Cortez, D., 2008. Analysis of the essential oils from *Calendula officinalis* growing in Brazil using three different extraction procedures. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44, 391-395.

- Ghadiryani, R., Soltani, A., Zeinali, E., Kalateh Arabi, M., Bakhshandeh, E., 2011. Evaluating non-linear regression models for use in growth analysis of wheat. *Electronic Journal of Crop Production*. 4, 55-77. [In Persian with English summary].
- Ghorbanli, M., Bakhshi Khaniki, G., Zakeri, A., 2012. Investigation on the effects of water stress on antioxidant compounds of *Linum usitatissimum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 27, 647-658. [In Persian with English Summary].
- Hassani, A., Omid Beighi, R., 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolically characteristics of basil (*Ocimum basilicum*). *Agricultural Knowledge*. 12, 47-59.
- Heidari, M., Jahan Tighi, H., 2014. Evaluate Effect of Water Stress and Different Amounts of Nitrogen Fertilizer on Seed Quality of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*. 11, 640-647. [In Persian with English Summary].
- Hsiao, T.C., 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*. 24, 519-570.
- Jafarzadeh, L., Omid, H., Bostani, A.A., 2014. The study of drought stress and Bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of Marigold medicinal plant (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Biology*. 27, 180-193.
- Kalvatchev, Z., Walder, R., Garzaro, D., 1997. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 51, 176-180.
- Król, B., 2012. Yield and chemical composition of flower heads of selected cultivars of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 11, 215-225.
- Merrill, R.K., Eckard, A.N. 1971. Evaluation of water stress control with polyethylene glycols by analysis of guttation. *Plant Physiology*. 47, 453-456
- Metwally, S.A., Khalid, A.K., Abou-Leila, B.H., 2013. Effect of water regime on the growth, flower yield, essential oil and proline contents of *Calendula officinalis*. *Bioscience*. 5, 65-69.
- Muley, B.P., Khadabadi, S.S., Banarase, N.B., 2009. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 8, 455-465.
- Omidbeigi, R., 2000. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Ghods Razavi Publications, Mashhad. [In Persian]
- Paim, L.F., Fontana, M., Winckler, M., Grando, A.A., Muneron, T.L., Roman, W.A., 2010. Assessment of plant development, morphology and flavonoid content in different cultivation treatments of *Calendula officinalis* L., Asteraceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 20, 974-980.
- Preethi, K., Chandran, R.K., 2008. Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 43, 58-64.
- Raal, A., Kirsipuu, K., 2011. Total flavonoid content in varieties of *Calendula officinalis* L. originating from different countries and cultivated in Estonia. *Natural Product Research*. 25, 658-662.
- Rahimi, A., Madah Hosseini, S., Pooryoosef, M., Fatehd, I., 2010. Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of *Plantago ovata* and *P. psyllium*. *Plant Ecophysiology*. 2, 53-60.
- Rahmani, N., Daneshian, J., Aliabadi Farahani, H. 2009. Effects of nitrogen fertilizer and irrigation regimes on seed yield of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*. 1, 24-28.
- Razmjoo, K., Heydarzadeh, P., and Sabzalian, M.R., 2008. Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomila*. *International Journal of Agriculture and Biology*. 10, 451-454.
- Sarker, B. C., Hara, M., Uemura, M., 2005. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. *Scientia Horticulturae*. 103, 387-402.
- Scalia, R., Oddo, E., Saiano, F., Grisafi, F. 2009. Effect of salinity on *Puccinellellia distans* (L.) Parl. treated with NaCl and foliarly applied glycine betaine. *Plant Stress*. 3, 49-54.

- Shabih, F., Farooqi, A.H.A., Ansari, S.R., Sharma, S., 1999. Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martinii* cultivars. *Journal of Essential Oil Research*. 11, 491-496.
- Shahidi, A., Kashkuli, H. A., Zamani, G.R., 2006. Estimation of yield function of wheat cultivars under salinity and deficit irrigation conditions in Birjand region. *Agricultural Sciences and Technology*. 20, 397-410. [In Persian with English Summary]
- Simon, J.E., Reiss-Buhenheinra, D., Joly, R.J., Charles, D.J., 1990. Water stress induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*. 4, 71-75.
- Singh, M., Ramesh, S., 2000. Effect of irrigation and nitrogen on herbage, oil yield and water-use efficiency in rosemary grown under semi-arid tropical conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*. 22, 659-662.
- Soltani, A., 2010. Re-consideration of Application of Statistical Methods in Agricultural Research. Mashhad Jihad-e-Daneshgahi Press, Mashhad. [In Persian].
- Soltani, A., 2012. Application of SAS in Statistical Analysis. Second Ed. Mashhad Jihad-e-Daneshgahi Press, Mashhad. [In Persian].
- Yang, Y., He, F., Yu, L., Chen, X., Lei, J., Ji, J., 2007. Influence of drought on oxidative stress and flavonoid production in cell suspension culture of *Glycyrrhiza inflata* Batal. *Journal for Nature Research*. 62, 410-416.
- Yuan, Y., Liu, Y., Wu, C., Chen, S., Wang, Z., Yang, Z., Qin, S., and Huang, L. 2012. Water deficit affected flavonoid accumulation by regulating hormone metabolism in *Scutellaria baicalensis georgi* roots. Vol. 7. PLoS ONE. e42946