

## ارزیابی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) تحت تأثیر رژیم آبیاری

ایمان قدیه زرین‌آبادی<sup>۱</sup>، جمشید رزمجو<sup>۱\*</sup>، علیرضا ابدالی مشهدی<sup>۲</sup>، حسن کریم مجنی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

<sup>۲</sup> گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، خوزستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۶/۱۲)

### چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تنش خشکی بر کربوهیدرات‌های محلول، پرولین ریشه و برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد گلبرگ و بذر ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. سه رژیم آبیاری (۳۵٪، ۶۰٪ و ۸۵٪ تخلیه آب قابل دسترس) به‌عنوان فاکتور اصلی و ۹ ژنوتیپ همیشه‌بهار (اهواز، تهران، اصفهان ۱، اصفهان ۲، Candy-man، Zen-gold، اصفهان ۳، اصفهان ۴) به‌عنوان فاکتور فرعی در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در اهواز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد تأثیر رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر عملکرد گلبرگ و بذر و صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. در اثر تنش خشکی بر محتوای کربوهیدرات‌ها و پرولین ریشه و برگ افزوده شد ولی از مقدار RWC، کارتنوئید، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، عملکرد گلبرگ و بذر ژنوتیپ‌ها به‌طور معنی‌داری کاسته شد. نتایج به‌دست آمده همبستگی بالای محتوای کربوهیدرات‌های محلول با RWC و شاخص حساسیت به خشکی را نشان می‌دهند. ژنوتیپ‌های متحمل دارای بالاترین محتوای کربوهیدرات‌های محلول، پرولین برگ و کارتنوئید بودند. براساس اعداد شاخص حساسیت به خشکی، ژنوتیپ‌های "اهواز"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۱" در گروه متحمل به خشکی، "تهران"، "Candy-man"، "Gitana" در گروه نیمه‌متحمل به خشکی و "اصفهان ۴"، "Zen-gold" و "اصفهان ۳" در گروه ژنوتیپ‌های حساس به خشکی تقسیم‌بندی شدند. ژنوتیپ "Candy-man" و ژنوتیپ "اهواز" به‌ترتیب بیشترین عملکرد گلبرگ و بذر را در کلیه سطوح خشکی تولید کردند.

واژه‌های کلیدی: رژیم آبیاری، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات‌های محلول، محتوای پرولین، همیشه‌بهار

### مقدمه

کشت گیاهان دارویی متحمل به خشکی یکی از راه‌های مقابله با این معضل و بهره‌برداری مناسب‌تر از امکانات موجود است (سلطانی، ۱۳۸۹). در گیاهان دارویی، تنش خشکی نقش عمده‌ای را در تعیین کمیت و کیفیت مواد مؤثره (متابولیت‌های ثانویه) ایفا می‌کند (امید بیگی، ۱۳۸۵)، لیکن برخلاف

تنش خشکی یکی از رایج‌ترین محدودیت‌های تولید در مناطق خشک و نیمه‌خشک بوده که امروزه با بهره‌برداری نامناسب از منابع محدود موجود و تغییرات اقلیمی با شدت بیشتری تولید را تحت تأثیر قرار داده است (Abedi and Pakniyat, 2010).

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: krazmjoo@cc.iut.ac.ir

قندها، اسیدهای آلی، کلسیم، پتاسیم و گلايسين فراهم می‌گردد (Sairam et al., 2002). در این شرایط گیاه جهت استمرار جذب آب با تجمع ترکیبات اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات‌های محلول پتانسیل اسمزی خود را کاهش داده یا به عبارتی تنظیم می‌کند تا فعالیت‌های حیاتی سلول ادامه یابد. تأثیر تنظیم اسمزی بر تحمل خشکی در گیاهان مختلف یکسان نبوده ولی معمولاً ارتباط مثبتی بین عملکرد و تنظیم اسمزی در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Najafabadi and Ehsanzadeh, 2017). بر همین اساس، می‌توان از محتوای کربوهیدرات‌ها و پرولین به‌عنوان معیاری در شناسایی ارقام متحمل به خشکی استفاده نمود. اسیدآمینو پرولین در سیتوپلاسم کلیه اندام‌های گیاه طی مدت تنش تجمع می‌یابد ولی تجمع آن در برگ‌ها و ریشه‌ها سریع‌تر و بیشتر است (Abedi and Pakniyat, 2010). گلوکز، فروکتوز و ساکاروز کربوهیدرات‌های محلول سازگار به شرایط کم‌آبی هستند که به‌عنوان تنظیم‌کننده و نگهدارنده پتانسیل اسمزی در سلول عمل می‌کنند (Oliveira Neto et al., 2009). در تنش خشکی به دلیل کاهش رشد و عدم انتقال کربوهیدرات‌ها و همچنین هیدرولیز نشاسته قند بیشتری تجمع می‌یابد که باعث کاهش پتانسیل آب و در نتیجه افزایش ظرفیت نگهداری آب سلول می‌گردد (Moradshahi et al., 2004). نتایج آزمایشات Askari و Ehsanzadeh (2015 b) نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های متحمل رازیانه ظرفیت بیشتری جهت تجمع محلول‌های اسمزی و در نتیجه محتوای نسبی آب بیشتر در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس به خشکی دارند. مطالعه Kadkhodaie و همکاران (2014 b) نیز نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو ژنوتیپ‌های متحمل کنگد تحت تنش خشکی بیشتر شده و در این شرایط محتوای پرولین، قندهای محلول و کارتنوئید برگ‌های متحمل نیز افزایش می‌یابد. به‌طور کلی تفاوت ژنوتیپ‌های مختلف در تحمل خشکی به توانایی گیاه در تجمع ترکیبات فیزیوشیمیایی نظیر قندهای محلول، پرولین و کارتنوئید بستگی دارد (Maghsoodi and Razmjoo, 2015). تغییر در محتوای کلروفیل و کارتنوئید برگ به‌عنوان یکی

محصولات زراعی که در شرایط تنش از نظر عملکرد آسیب می‌بینند در چنین شرایطی گیاه دارویی ممکن است با تولید ماده مؤثره بیشتر بازده اقتصادی بالاتری داشته باشد (Askari and Ehsanzadeh, 2015 a). کشت همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) به‌عنوان گیاهی زینتی و دارویی در مناطق مختلف جهان سابقه طولانی دارد (Joly et al., 2013). همیشه‌بهار به‌واسطه تحمل خشکی و سازگاری به شرایط مختلف آب و هوایی، دارای پتانسیل کشت به‌عنوان گیاه دارویی و صنعتی است. خواص دارویی این گیاه به‌واسطه ترکیبات با ارزشی همچون کارتنوئیدها، فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، استروئیدها، تریپنوئیدها، موسیلاژها، ساپونین‌ها و انواع اسیدهای چرب است که از گلبرگ‌ها و دانه آن قابل استخراج هستند (Lim, 2012). لیپیدها با ترکیب انواع اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع ترکیبات مورد توجه بذور همیشه‌بهار هستند. کالندیک اسید (Calendic acid) بیش از ۶۰ درصد کل اسیدهای چرب موجود در بذور همیشه‌بهار را تشکیل داده که در صنایع رنگ و لاک کاربرد دارد (Cromack and Smith, 1998).

تنش خشکی به دلیل کاهش پتانسیل آب برگ، موجب کاهش کلیه پارامترهای روابط آبی گیاه می‌گردد. با کاهش پتانسیل آب برگ فشار تورژانس برگ، هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد که منجر به افت رشد و نقصان عملکرد می‌گردد (Siddique et al., 2000). محتوای رطوبت نسبی برگ (RWC) یکی از شاخص‌های وضعیت آبی گیاه است که تحت تأثیر مراحل رشدی گیاه و محیط تغییر می‌کند و شاخص مناسبی برای ارزیابی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی است (Li-Ping et al., 2006). RWC به‌واسطه سرعت و سهولت اندازه‌گیری، معیاری قابل اعتماد جهت اندازه‌گیری وضعیت آب در بافت‌های گیاهی مطرح است و به همین دلیل به پتانسیل آب سلول برتری دارد (Schonfeld et al., 1988). تحت شرایط تنش خشکی تنظیم اسمزی مکانیسم مقاومتی سلول جهت حفظ روابط آبی گیاه است که با تجمع یون‌ها و یا مواد محلول با وزن مولکولی کم همچون اسیدهای آمینه،

خشکی ژنوتیپ‌ها و در نهایت تعیین مناسب‌ترین رژیم آبیاری و ژنوتیپ‌های متحمل همیشه‌بهار است.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین واقع در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز (عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه، طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه و ۵۰ متر ارتفاع از سطح دریا) انجام شد. حداکثر و حداقل دمای روزانه طی فصل رشد در شکل ۱ نشان داده شده است. براساس نتایج آزمون خاک بافت خاک سیلتی رسی (۱۳٪ ماسه، ۳۴٪ رس و ۵۳٪ سیلت) بوده، وزن ظاهری آن ۱/۳۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب، اسیدیته خاک ۷، شوری خاک ۳/۲ دسی‌زیمنس بر متر، ظرفیت نگهداری آب خاک در ظرفیت زراعی (FC) ۲۴/۵ درصد و ظرفیت نگهداری آب خاک در نقطه پژمردگی دائم ۱۳/۳ درصد بود.

آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. سه رژیم آبیاری (۳۵٪، ۶۰٪ و ۸۵٪ تخلیه آب قابل دسترس، به‌ترتیب تحت عنوان I1 (شاهد)، I2 (تنش متوسط) و I3 (تنش شدید) به‌عنوان فاکتور اصلی و نه ژنوتیپ همیشه‌بهار (اهواز، تهران، اصفهان ۱، اصفهان ۲، Candy-man، Gitana، Zen-gold، اصفهان ۳، اصفهان ۴) به‌عنوان فاکتور فرعی مورد ارزیابی قرار گرفتند. کرت‌های آزمایشی شامل ۶ ردیف ۳ متری با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بودند. فاصله بین بوته‌ها ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کشت در تاریخ ۲۷ آبان سال ۱۳۹۴ انجام شد.

#### نحوه اعمال تیمارهای آبیاری: آبیاری از ابتدای کشت تا

استقرار کامل بوته‌ها (چهار برگگی) برحسب نیاز در تمام کرت‌ها به‌صورت یکسان انجام شد. تیمارهای آبیاری تقریباً ۵۰ روز پس از کشت اعمال شدند. تیمارهای آبیاری براساس تخلیه مجاز مدیریتی (Managed Allowed Depletion) (MAD) تعیین شدند (Allen et al., 1998). MAD کسری از آب قابل استفاده خاک (Available Soil Water) (ASW) است که تا قبل از آبیاری از منطقه فعال ریشه تخلیه شده است

از عوامل مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تولید ماده خشک در شرایط کم‌آبی مطرح می‌باشد (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). تأثیر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل و کارتنوئید متنوع بوده و به شرایط محیطی، ژنوتیپ و حتی رقم بستگی دارد (Mensah et al., 2006). کارتنوئیدها، رنگدانه‌های فتوسنتزی را از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد حفاظت کرده و قادر هستند حالت برانگیخته کلروفیل را خاموش کرده و از طریق پایین‌آوردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام دهند که به این ترتیب به‌طور غیرمستقیم گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند. نتایج حاصل از مطالعات اثر خشکی بر کارتنوئید برگ گیاهان مختلف متفاوت گزارش شده به طوری که در ارقام پنبه (Parida et al., 2007) و ارزن (Ashraf et al., 2001) کاهش محتوای کارتنوئید و در ارقام یونجه (Maghsoodi and Razmjoo, 2015) و کنجد (Kadkhodaie et al., 2014 a) افزایش محتوای کارتنوئید گزارش شده است.

در حال حاضر اهمیت کشت گیاهان دارویی به‌منظور تولید مقرون به‌صرفه مواد مؤثره بسیار مورد توجه است. با توجه به محدودیت منابع آب و امکان افزایش ماده مؤثره در شرایط کم‌آبی کنترل‌شده در گیاهان دارویی لزوم انجام تحقیقات در این رابطه و بررسی تأثیر رژیم‌های رطوبتی بر تولید کمی و کیفی گیاهان و تعیین ارقام متحمل به خشکی و مناسب هر منطقه ضروری به‌نظر می‌رسد. علیرغم تحقیقات انجام‌شده در رابطه با تأثیر تنش خشکی بر گیاهان دارویی، لیکن در مورد پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مکانیزم‌های تحمل ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار مطالعه جامعی صورت نگرفته است. ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار از نظر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک متفاوت بوده و بر همین اساس از لحاظ مکانیزم‌های تحمل خشکی و پاسخ گیاه نیز می‌توانند دارای تنوع قابل توجهی باشند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سه رژیم آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل خشکی و بررسی همبستگی هر یک از صفات مورد ارزیابی با هم و با شاخص‌های مقاومت به خشکی و ارتباط آنها با تحمل به



شکل ۱- نمودار حداقل و حداکثر دمای روزانه هوا طی فصل رشد

کتور با دقت سنجش یک لیتر انجام شد. جهت کنترل آب ورودی و ممانعت از ورود آب باران به کرت‌ها، شلترهای پلاستیکی به کار برده شد. مقدار تجمعی آب استفاده شده در رژیم‌های آبیاری طی فصل رشد در شکل ۲ نشان داده شده است.

**روش اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی:** اواسط مرحله گلدهی، محتوای نسبی آب برگ، پرولین ریشه و برگ، قندهای محلول، محتوی کلروفیل a، b و کارتنوئید سه بوته از هر کرت آزمایشی اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، ابتدا وزن تازه نمونه برگ‌ها تعیین شد سپس آنها را به مدت ۴ ساعت در آب مقطر در دمای آزمایشگاه و تاریکی قرار داده و متعاقب آن وزن برگ‌ها در حالت آماس تعیین گردید. جهت تعیین وزن خشک نمونه برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در نهایت محتوای نسبی آب برگ (RWC) از رابطه زیر به دست آمد (Smart and Bingham, 1974):

$$RWC = \frac{\text{وزن خشک-وزن آماس}}{\text{وزن خشک-وزن تازه}} \times 100$$

برای تعیین غلظت پرولین برگ و ریشه از روش (Bates et al., 1973) استفاده شد. ۰/۵ گرم برگ تازه یا ریشه شسته شده در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد له شده و عصاره فیلتر گردید. ۲ میلی‌لیتر از عصاره به لوله آزمایشی حاوی ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در حمام آب جوش

و مقدار آن برای تعیین میزان تخلیه رطوبتی در منطقه ریشه بین دفعات آبیاری (جهت اعمال تنش خشکی موردنظر) قابل مدیریت است. تیمارهای آبیاری ۳۵٪، ۶۰٪، و ۸۵٪ تخلیه آب قابل استفاده خاک در نظر گرفته شدند. مقدار رطوبت خاک به روش وزنی از عمق ۴۰ سانتی‌متری ریشه سه روز پس از آبیاری سپس هر روز تا قبل از آبیاری بعدی اندازه‌گیری می‌شد. مقدار رطوبتی که در آن رطوبت باید آبیاری انجام شود براساس معادله زیر محاسبه شد (Allen et al., 1998):

$$\theta_{irrig} = \theta_{FC} - (\theta_{FC} - \theta_{WP}) \times f \quad (1)$$

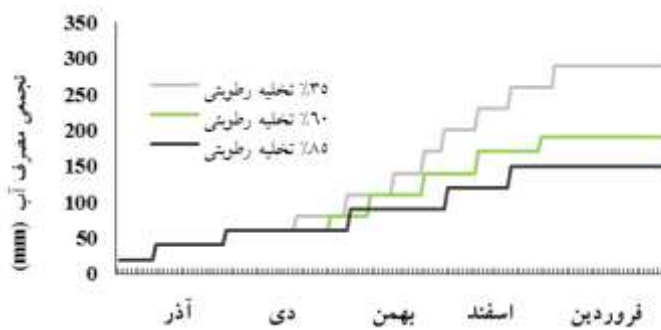
که  $\theta_{irrig}$  میانگین رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه برای هر تیمار آبیاری در زمان آبیاری است ( $\text{g kg}^{-1}$ )،  $\theta_{FC}$  محتوای آب خاک در ظرفیت زراعی ( $\text{g kg}^{-1}$ )،  $\theta_{WP}$  محتوای آب خاک در نقطه پژمردگی دائم ( $\text{g kg}^{-1}$ ) و  $f$  کسری از ASW (۳۵٪، ۶۰٪ و ۸۵٪) است که از منطقه ریشه در هر تیمار آبیاری تخلیه می‌شود (Allen et al., 1998). عمق آب آبیاری ( $D_{irrig}$ ) براساس میانگین محتوای آب خاک به وسیله معادله زیر به دست آمد:

$$D_{irrig} = (\theta_{FC} - \theta_{avg}) \times \rho_b \times D_r \quad (2)$$

که  $\theta_{FC}$  محتوای آب خاک در ظرفیت زراعی (٪)،  $\theta_{avg}$  میانگین رطوبت خاک در عمق ریشه (٪)،  $\rho_b$  وزن ظاهری خاک ( $\text{g cm}^{-3}$ ) و  $D_r$  عمق ریشه (cm) است. حجم آب آبیاری ( $V_{irrig}$ ) هر کرت نیز با استفاده از معادله (۳) تعیین گردید:

$$V_{irrig} = \frac{D_{irrig} \times A}{E_a} \quad (3)$$

که  $A$  مساحت هر کرت ( $\text{m}^2$ ) و  $E_a$  راندمان آبیاری (٪) است. آبیاری با لوله و پمپ انجام گردید و حجم آب نیز به وسیله



شکل ۲- نمودار تجمعی آب مصرفی در رژیم‌های آبیاری (۳۵، ۶۰ و ۸۵ درصد تخلیه رطوبتی خاک) طی فصل رشد

$$\text{Chl b (mg/g FW)} = \{(20.13 \times \text{Abs}_{645}) - (4.19 \times \text{Abs}_{661})\} \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{Chl Total (mg/g FW)} = \text{Chl a} + \text{Chl b} \quad \text{Car (mg/g FW)} = \{(1000 \times \text{Abs}_{470} - 1.90 \times \text{Chl a} - 63.14 \times \text{Chl b}) / 214\} \times V / (1000 \times W)$$

در این معادلات غلظت کلروفیل بر حسب میلی‌گرم کلروفیل در هر گرم وزن تر نمونه، V حجم نمونه استخراج‌شده، W وزن تر نمونه، Abs<sub>645</sub> جذب نور در طول موج ۶۴۵ نانومتر و Abs<sub>663</sub> جذب نور در طول موج ۶۶۳ نانومتر و Abs<sub>470</sub> جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر است.

پس از گلدهی هر زمان که بوته‌های ردیف علامت‌گذاری شده به ۵۰ درصد گلدهی می‌رسید، گل‌های آن برداشت شده و گلبرگ‌ها پس از جداسازی در سایه خشکانده می‌شدند. در نهایت مجموع وزن خشک گلبرگ‌های برداشت‌شده به‌عنوان عملکرد گلبرگ خشک ثبت شد.

برای اندازه‌گیری عملکرد دانه پس از رسیدگی فیزیولوژیک و با رسیدن رطوبت کاپیتول‌ها به ۱۴ درصد برداشت کاپیتول از یکی از خطوط میانی کشت انجام شد. پس از جداسازی بذور و بوجاری آنها عملکرد در هکتار بذر مشخص گردید.

شاخص حساسیت به تنش براساس فرمول Fischer و Maurer (۱۹۷۸) محاسبه شد:

$$SSI = (1 - \frac{Y_{si}}{Y_{pi}}) / SI \quad (4)$$

$$SI = 1 - (\frac{Y_s}{Y_p}) \quad (5)$$

که  $Y_{pi}$  عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون استرس،  $Y_{si}$  عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط استرس،  $Y_s$  متوسط عملکرد همه ژنوتیپ‌ها در شرایط استرس و  $Y_p$  متوسط عملکرد همه ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون استرس است. کمترین مقدار SSI

گرم شد. پس از خنک‌شدن روی یخ ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به‌خوبی مخلوط گردید. در نهایت فاز تولوئن جدا شد و میزان جذب نور آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر (مدل UV2100-UNIKO) تعیین شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد مشخص شده و بر حسب میکرومول پرولین در گرم نمونه تازه بیان گردید.

محتوای قندهای محلول برگ براساس روش فنل-اسیدسولفوریک تعیین شد (Irigoyen et al., 1992). در این روش ۵۰۰ میلی‌گرم از برگ‌های خشک در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد آسیاب شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره همگن‌شده با ۳ میلی‌لیتر انترن (۱۵۰ میلی‌گرم انترن، ۱۰۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۷۲ درصد) مخلوط گردید. عصاره به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. میزان قندهای محلول برگ با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز مشخص و بر حسب میلی‌گرم در گرم گزارش گردید.

محتوای کلروفیل a، b و کارتنوئید برگ نیز به روش Lichtenthaler و Buschmann (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. یک گرم برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شده و ۲۴ ساعت در تاریکی نگه داشته شد. سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب نور در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر ثبت گردید. محتوای کلروفیل a، b و کارتنوئید برگ با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید و نتایج براساس میلی‌گرم رنگدانه در گرم برگ تازه گزارش شد.

$$\text{Chl a (mg/g FW)} = \{(11.24 \times \text{Abs}_{662}) - (2.04 \times \text{Abs}_{645})\} \times V / (1000 \times W)$$

خشکی با تنظیم پتانسیل اسمزی سلول تا حدودی کاهش می‌یابد؛ این افزایش محتوای پرولین تحت شرایط تنش ممکن است در نتیجه القا سنتز پرولین و یا جلوگیری از تجزیه آن باشد (Fazeli et al., 2006). در معرفی مارکرهای فیزیولوژیکی تحمل خشکی یونجه، Maghsoodi و Razmjoo (۲۰۱۵) همبستگی بالایی بین شاخص تحمل خشکی و محتوای پرولین را گزارش کردند. به نظر می‌رسد مقدار پرولین ریشه و برگ ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار نیز می‌تواند شاخصی از تحمل خشکی ژنوتیپ‌ها باشد به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های "اهواز" و "اصفهان ۲" با پرولین ریشه و برگ بالاتر متحمل‌تر بوده و ژنوتیپ‌های حساس‌تر که محتوای پرولین کمتری را دارا بودند تنظیم اسمزی کمتری در آنها اتفاق افتاده و محتوای رطوبت نسبی کمتری را نشان دادند.

محتوای کربوهیدرات‌های محلول برگ در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر رژیم آبیاری قرار گرفت (جدول ۱) و با افزایش تنش خشکی بر مقدار آن به‌طور معنی‌داری افزوده شد (جدول ۲). در مقایسه تیمارهای آبیاری I2 و I3 با I1 کربوهیدرات‌های محلول برگ به‌ترتیب ۱۷/۸ و ۱۵/۵ درصد افزایش یافتند (جدول ۲). بین محتوای کربوهیدرات‌های محلول برگ ژنوتیپ‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). ژنوتیپ‌های "اهواز" و "اصفهان ۲" دارای بیشترین محتوای کربوهیدرات‌های محلول بودند این در حالی است که کمترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول (۷۱/۸ میلی‌گرم در گرم) در ژنوتیپ "Zen-gold" مشاهده شد (جدول ۲). برهمکنش رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک در سطح تنش ملایم (I2)، بیشترین میزان افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول (۴۳/۱ درصد) مربوط به ژنوتیپ "اصفهان ۱" بود. با تشدید تنش خشکی (I3)، افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول ژنوتیپ "اهواز" (۳۸/۶ درصد) بیش از سایر ژنوتیپ‌ها بود و تحت همین شرایط تغییری در محتوای کربوهیدرات‌های محلول ژنوتیپ "Zen-gold" مشاهده نشد (شکل ۳ c).

متناظر با بیشترین تحمل خشکی می‌باشد.

تجزیه واریانس داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها نیز به‌وسیله آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج و بحث

محتوای پرولین برگ و ریشه در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر رژیم‌های آبیاری قرار گرفتند (جدول ۱). با تشدید تنش خشکی محتوای پرولین برگ و ریشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). در مقایسه تیمارهای آبیاری I2 و I3 با I1 پرولین برگ به‌ترتیب ۳۵/۸ و ۲۸/۴ درصد و پرولین ریشه به‌ترتیب ۳۸/۶ و ۲۷/۶ درصد افزایش یافتند (جدول ۲). بین محتوای پرولین ریشه و برگ ژنوتیپ‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). ژنوتیپ "اهواز" دارای بیشترین محتوای پرولین ریشه (۵/۵۹ میکرومول در گرم) و پرولین برگ (۴/۸۰ میکرومول در گرم) بود در حالیکه کمترین مقدار پرولین ریشه (۳/۷۹ میکرومول در گرم) و برگ (۲/۸۸ میکرومول در گرم) به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های "Zen-gold" و "اصفهان ۴" مشاهده شد (جدول ۲). برهمکنش رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر محتوای پرولین برگ و ریشه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک در سطح تنش ملایم بیشترین میزان افزایش محتوای پرولین ریشه (۱۰۱ درصد) و برگ (۹۷ درصد) به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های "Candy-man" و "Gitana" مشاهده شد. در شرایط تنش شدید خشکی بیشترین میزان افزایش پرولین ریشه (۷۰/۸ درصد) و برگ (۷۱/۷ درصد) به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های "Candy-man" و "اصفهان ۱" به‌دست آمد (شکل ۳ a و b).

در آزمایشات متعددی افزایش میزان پرولین گیاهان زراعی (Kadkhodaie et al., 2014 a; Mafakheri et al., 2010) و دارویی (Askari and Ehsanzadeh, 2015 b) تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده است. تحت شرایط تنش با تجمع پرولین ظرفیت نگهداری آب گیاه افزایش می‌یابد و تأثیر تنش

جدول ۱- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در سه رژیم آبیاری و نه ژنوتیپ همیشه‌بهار

میانگین مربعات					df	منابع تغییر
عملکرد بذر	رطوبت نسبی برگ	پرولین ریشه	پرولین برگ	کربوهیدرات‌های محلول برگ		
۶۶۲۱۶/۱ <sup>ns</sup>	۱۵/۸۹ <sup>ns</sup>	۱/۴۶ <sup>ns</sup>	۰/۲۰ <sup>ns</sup>	۵۷/۵۹ <sup>ns</sup>	۲	بلوک
۹۱۳۸۶۰۴/۷ <sup>**</sup>	۷۹۵/۹۹ <sup>**</sup>	۱۵/۳۹ <sup>**</sup>	۷/۴۱ <sup>**</sup>	۱۴۱۹/۷۱ <sup>**</sup>	۲	رژیم آبیاری
۹۵۸۵۵۰۵/۰ <sup>**</sup>	۳۷/۵۵ <sup>**</sup>	۲/۵۷ <sup>**</sup>	۳/۲۷ <sup>**</sup>	۸۴۱/۶۹ <sup>**</sup>	۸	ژنوتیپ
۹۱۴۶۴/۰ <sup>ns</sup>	۳/۱۸ <sup>ns</sup>	۲/۱ <sup>**</sup>	۱/۳۹ <sup>**</sup>	۲۶۶/۴۰۵ <sup>**</sup>	۱۶	ژنوتیپ × رژیم آبیاری
۸۹۹۹۸/۴	۷/۲۹	۰/۲۵	۰/۱۴	۵۶/۳۱	۵۲	خطا

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ns غیرمعنی‌دار

ادامه جدول ۱-

میانگین مربعات					df	منابع تغییر
عملکرد گلبرگ خشک	کارتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a		
۵۸/۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳ <sup>ns</sup>	۲	بلوک
۱۸۴۵۸۸۴/۷ <sup>**</sup>	۰/۰۴۳ <sup>**</sup>	۰/۲۷ <sup>**</sup>	۰/۰۲۴ <sup>*</sup>	۰/۱۳۵ <sup>**</sup>	۲	رژیم آبیاری
۸۵۷۰۶۴/۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۸ <sup>**</sup>	۰/۰۵۴ <sup>**</sup>	۰/۰۰۲ <sup>**</sup>	۰/۰۴۰ <sup>**</sup>	۸	ژنوتیپ
۷۲۶۵۹/۷ <sup>**</sup>	۰/۰۰۶ <sup>**</sup>	۰/۰۵۸ <sup>**</sup>	۰/۰۰۸ <sup>**</sup>	۰/۰۲۸ <sup>**</sup>	۱۶	ژنوتیپ × رژیم آبیاری
۷۱۱۸/۲	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۳	۵۲	خطا

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و ns غیرمعنی‌دار

بالای بین قندهای محلول، پرولین، RWC و شاخص تحمل خشکی می‌تواند نشان‌دهنده نقش مؤثر تنظیم اسمزی در تحمل خشکی ژنوتیپ‌های رازیانه باشد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. در این تحقیق نیز همبستگی معنی‌داری بین محتوای کربوهیدرات‌های محلول، RWC (\*\*۰/۷۳) و شاخص حساسیت به خشکی (\*\*۰/۸۹-) مشاهده شد به‌طوری‌که افزایش کربوهیدرات‌های محلول تحت شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل ("هواز"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۱") بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس به خشکی ("Zen-gold"، "اصفهان ۳" و "اصفهان ۴") است. نتایج به‌دست آمده نقش این ترکیبات را در تحمل خشکی نشان می‌دهد. محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال پنج درصد تحت

تحت شرایط تنش محتوای قندهای محلول متناسب با گونه گیاهی، ژنوتیپ، شدت و مدت تنش و مرحله رشدی گیاه ممکن است به‌صورت افزایشی (Parida et al., 2007) یا کاهش (Silvente et al., 2012) تغییر کند. از آنجا که قندهای محلول منبع انرژی سلول‌های گیاه هستند نقش مهمی را در مکانیسم تحمل گیاه تحت شرایط تنش خشکی ایفا می‌کنند (Mostajeran and Rahimi-Eichi, 2009) از طرفی دیگر Pinhero و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که کربوهیدرات‌ها ممکن است از طریق تغذیه مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات، امکان جاروب کردن ROS را فراهم کنند. نتایج مطالعات Askari و Ehsanzadeh (b ۲۰۱۵) افزایش قندهای محلول ژنوتیپ‌های رازیانه را با تشدید تنش نشان می‌دهد و همبستگی

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح آبیاری و ژنوتیپ برای صفات مورد بررسی در همیشه‌بهار

عملکرد بذر (kg/ha)	محتوای رطوبت نسبی برگ (%)	پرولین ریشه (μmol/g)	پرولین برگ (μmol/g)	کربوهیدرات‌های محلول برگ (mg/g)	رژیم آبیاری
۳۱۹۵/۵۹ <sup>a</sup>	۸۶/۹۹ <sup>a</sup>	۳/۷۹ <sup>c</sup>	۲/۷۷ <sup>b</sup>	۷۴/۹۴ <sup>b</sup>	I1
۲۵۲۸/۳۷ <sup>b</sup>	۸۱/۲۰ <sup>b</sup>	۵/۲۶ <sup>a</sup>	۳/۷۶ <sup>a</sup>	۸۸/۲۶ <sup>a</sup>	I2
۲۰۳۶/۴۴ <sup>c</sup>	۷۶/۱۴ <sup>c</sup>	۴/۸۴ <sup>b</sup>	۳/۵۵ <sup>a</sup>	۸۶/۵۸ <sup>a</sup>	I3
					ژنوتیپ
۳۸۴۵/۹۰ <sup>a</sup>	۸۴/۳۲ <sup>a</sup>	۵/۵۹ <sup>a</sup>	۴/۸۰ <sup>a</sup>	۹۶/۴۶ <sup>a</sup>	اهواز
۳۰۹۱/۱۰ <sup>c</sup>	۸۱/۸۵ <sup>abcd</sup>	۴/۸۶ <sup>bc</sup>	۳/۴۹ <sup>bc</sup>	۷۹/۵۳ <sup>bcd</sup>	تهران
۳۴۱۷/۶۰ <sup>b</sup>	۸۲/۳۱ <sup>abc</sup>	۴/۵۳ <sup>cde</sup>	۳/۳۱ <sup>bcd</sup>	۹۳/۶۳ <sup>a</sup>	اصفهان ۱
۴۰۵۲/۹۰ <sup>a</sup>	۸۳/۹۵ <sup>ab</sup>	۵/۰۵ <sup>b</sup>	۳/۶۵ <sup>b</sup>	۹۶/۴۵ <sup>a</sup>	اصفهان ۲
۱۵۸۷/۹۰ <sup>f</sup>	۸۱/۷۴ <sup>bcd</sup>	۴/۷۸ <sup>bc</sup>	۳/۰۶ <sup>de</sup>	۸۲/۱۰ <sup>b</sup>	Candy-man
۱۷۵۸/۱ <sup>ef</sup>	۸۰/۱۸ <sup>cde</sup>	۴/۲۵ <sup>def</sup>	۳/۲۰ <sup>cde</sup>	۷۹/۳۲ <sup>bc</sup>	Gitana
۱۲۹۳/۰ <sup>g</sup>	۷۷/۹۲ <sup>e</sup>	۳/۷۹ <sup>f</sup>	۲/۸۸ <sup>e</sup>	۷۸/۲۲ <sup>bcd</sup>	Zen-gold
۱۹۷۲/۳۰ <sup>e</sup>	۷۹/۵۲ <sup>de</sup>	۴/۶۷ <sup>bcd</sup>	۲/۹۶ <sup>de</sup>	۷۱/۷۷ <sup>d</sup>	اصفهان ۳
۲۲۶۲/۴۰ <sup>d</sup>	۸۱/۲۱ <sup>cd</sup>	۴/۱۵ <sup>ef</sup>	۲/۸۸ <sup>e</sup>	۷۴/۳۰ <sup>cd</sup>	اصفهان ۴

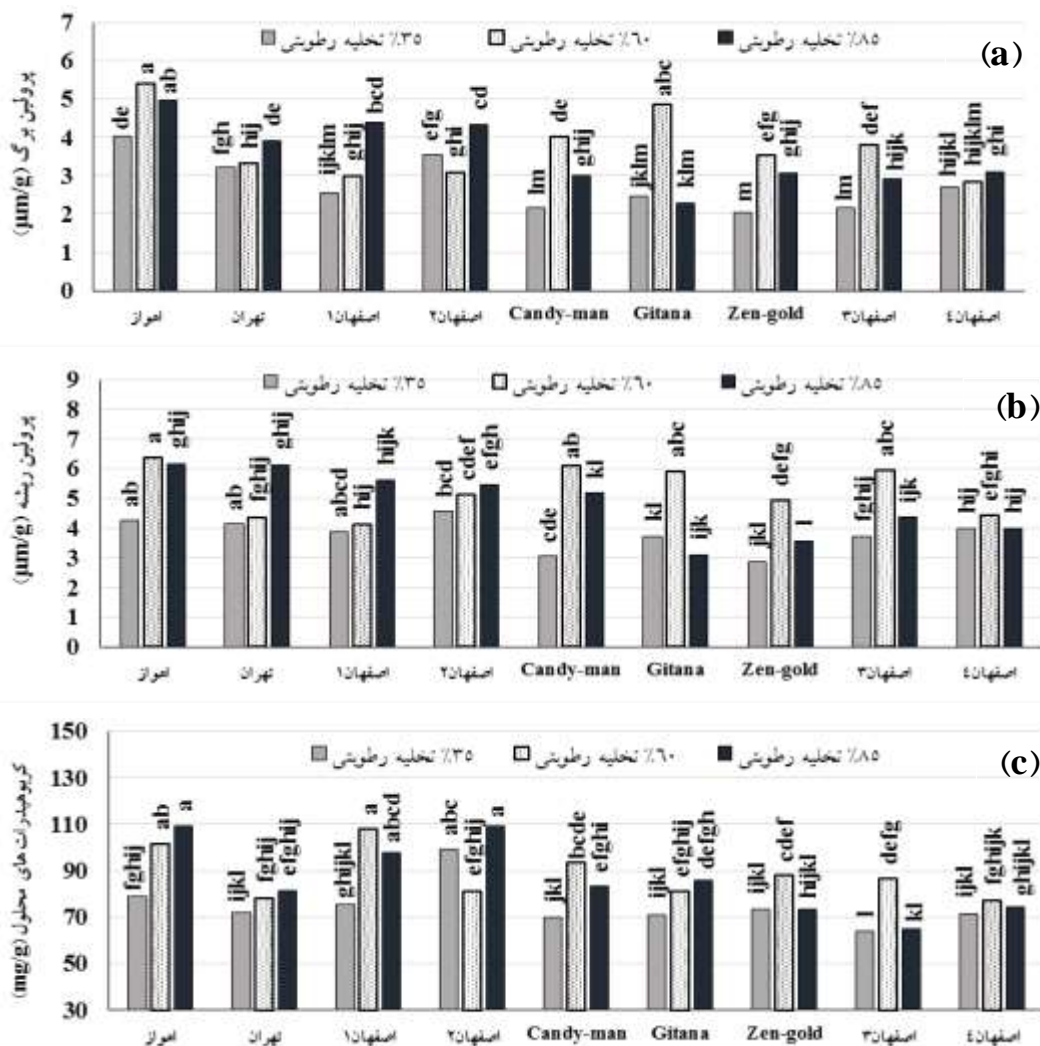
در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نمی باشد.

ادامه جدول ۲-

عملکرد گلبرگ خشک (kg/ha)	کارتونئید (mg/g)	کلروفیل کل (mg/g)	کلروفیل b (mg/g)	کلروفیل a (mg/g)	رژیم آبیاری
۹۴۹/۲۶ <sup>a</sup>	۰/۲۲۷ <sup>b</sup>	۰/۹۲ <sup>a</sup>	۰/۲۴۳ <sup>a</sup>	۰/۶۸ <sup>a</sup>	I1
۷۶۵/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۲۵۱ <sup>a</sup>	۰/۹۴ <sup>a</sup>	۰/۲۶۰ <sup>a</sup>	۰/۶۹ <sup>a</sup>	I2
۴۳۳/۳۰ <sup>c</sup>	۰/۱۷۲ <sup>c</sup>	۰/۷۶ <sup>b</sup>	۰/۲۰۱ <sup>b</sup>	۰/۵۶ <sup>b</sup>	I3
					ژنوتیپ
۱۰۳۱۲/۷ <sup>a</sup>	۰/۲۷۹ <sup>a</sup>	۱/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۵۹ <sup>a</sup>	۰/۷۴ <sup>a</sup>	اهواز
۳۹۸/۰۰ <sup>e</sup>	۰/۲۲۸ <sup>bc</sup>	۰/۹۲ <sup>bc</sup>	۰/۲۴۲ <sup>ab</sup>	۰/۶۸ <sup>bc</sup>	تهران
۶۹۱/۰ <sup>c</sup>	۰/۱۹۹ <sup>de</sup>	۰/۸۱ <sup>d</sup>	۰/۲۱۷ <sup>c</sup>	۰/۵۹ <sup>de</sup>	اصفهان ۱
۴۵۳/۱۱ <sup>e</sup>	۰/۲۱۷ <sup>cd</sup>	۰/۹۳ <sup>b</sup>	۰/۲۳۴ <sup>bc</sup>	۰/۶۹ <sup>b</sup>	اصفهان ۲
۱۳۵۳/۶۷ <sup>a</sup>	۰/۱۹۹ <sup>de</sup>	۰/۸۶ <sup>cd</sup>	۰/۲۳۶ <sup>bc</sup>	۰/۶۲ <sup>d</sup>	Candy-man
۹۴۰/۸۹ <sup>b</sup>	۰/۲۴۲ <sup>b</sup>	۰/۸۶ <sup>cd</sup>	۰/۲۶۱ <sup>a</sup>	۰/۶۰ <sup>de</sup>	Gitana
۹۴۷/۶۷ <sup>b</sup>	۰/۲۰۰ <sup>de</sup>	۰/۷۷ <sup>e</sup>	۰/۲۲۰ <sup>c</sup>	۰/۵۵ <sup>e</sup>	Zen-gold
۵۶۳/۱۱ <sup>d</sup>	۰/۱۹۰ <sup>e</sup>	۰/۸۶ <sup>cd</sup>	۰/۲۲۷ <sup>bc</sup>	۰/۶۳ <sup>cd</sup>	اصفهان ۳
۲۲۶۲/۴۰ <sup>d</sup>	۰/۱۹۷ <sup>de</sup>	۰/۸۳ <sup>de</sup>	۰/۲۱۹ <sup>c</sup>	۰/۶۱ <sup>de</sup>	اصفهان ۴

در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نمی باشد.





شکل ۳- برهمکنش سطوح خشکی و ژنوتیپ بر (a) پروتئین برگ، (b) پروتئین ریشه و (c) کربوهیدرات‌های محلول برگ ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار

(Maghsoodi and Razmjoo, 2015) و پنبه (Parida et al., 2007) کاهش RWC تحت تنش خشکی را نشان می‌دهند. در این مطالعات (به‌ویژه در یونجه) همبستگی قابل قبولی بین شاخص حساسیت به خشکی و RWC وجود داشت و ژنوتیپ متحمل‌تر با تنظیم اسمزی بهتر (با تجمع پروتئین و قندهای محلول و کاهش پتانسیل اسمزی) RWC بالاتری را در شرایط تنش حفظ کرده و در نتیجه سازگاری مناسب‌تری به خشکی داشته است. از آنجاکه همبستگی بالایی بین تجمع پروتئین و کربوهیدرات‌های محلول با RWC و شاخص حساسیت به خشکی (جدول ۳) وجود دارد. به‌نظر می‌رسد این اسمولیت‌ها نقش حفاظتی خود در برابر تنش خشکی در ژنوتیپ‌های

تأثیر رژیم‌های آبیاری قرار گرفت (جدول ۱). با تشدید تنش خشکی به‌طور معنی‌داری از محتوای رطوبت نسبی برگ کاسته شد (جدول ۲). در مقایسه تیمارهای آبیاری I2 و I3 با I1، محتوای رطوبت نسبی برگ به‌ترتیب ۶/۷ و ۱۲/۵ درصد کاهش یافت (جدول ۲). تفاوت معنی‌داری در رطوبت نسبی برگ ژنوتیپ‌های مورد آزمایش مشاهده شد (جدول ۱). ژنوتیپ "اهواز" دارای بیشترین محتوای رطوبت نسبی برگ (۸۴/۳۲ درصد) بود در حالیکه کمترین مقدار رطوبت نسبی برگ (۷۷/۹۲ درصد) مربوط به ژنوتیپ "Zen-gold" بود (جدول ۲). مطالعات انجام‌شده روی ژنوتیپ‌های مختلف یونجه (Najafabadi and Ehsanzadeh, 2017)

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار تحت شرایط تنش خشکی شدید

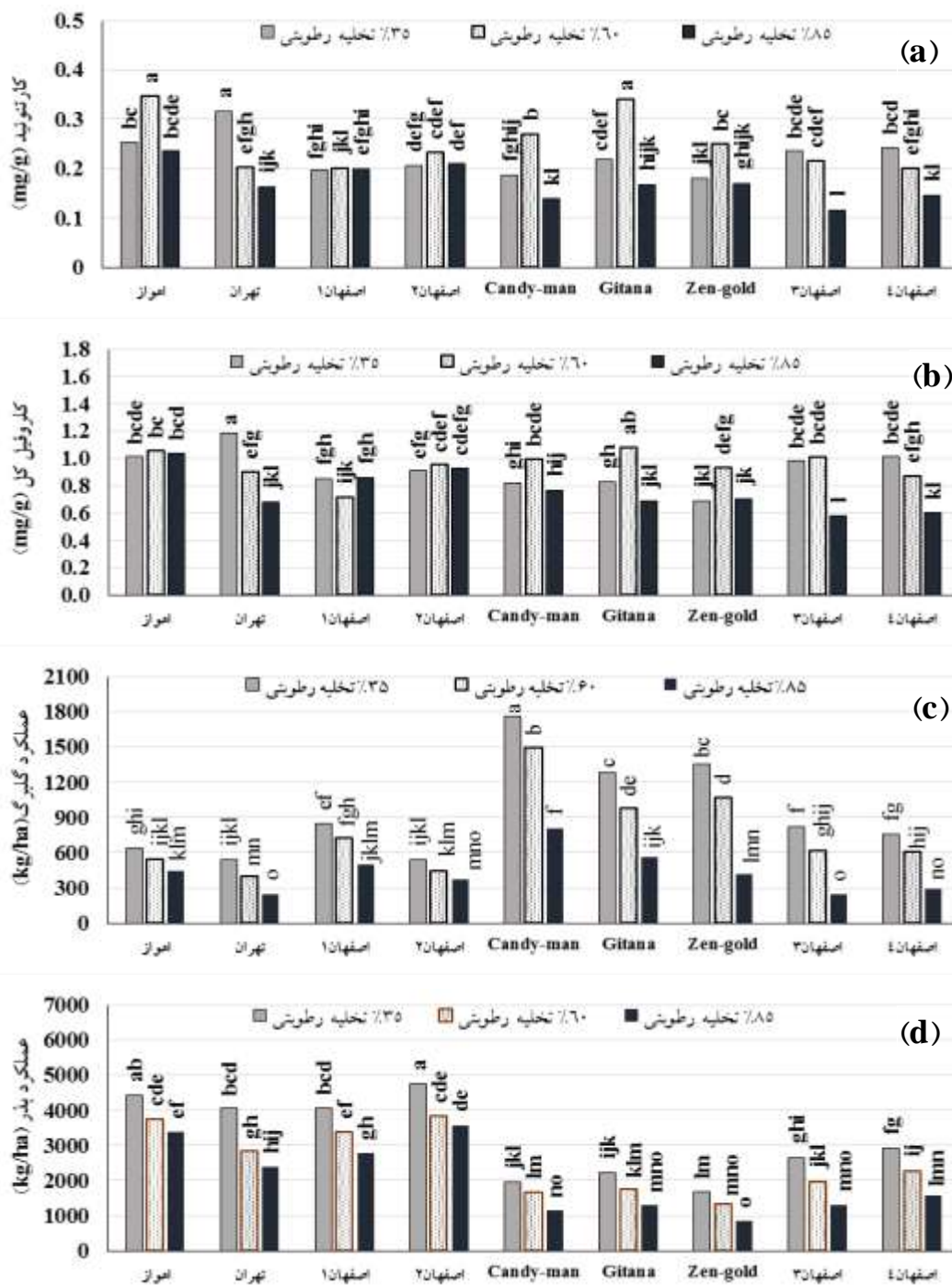
	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
۱- کربوهیدرات‌های محلول											۱
۲- پرولین برگ										۱	۰/۷۵**
۳- پرولین ریشه									۱	۰/۸۶**	۰/۶۰**
۴- رطوبت نسبی برگ								۱	۰/۶۴**	۰/۷۰**	۰/۷۳**
۵- کلروفیل A							۱	۰/۴۹*	۰/۵۶**	۰/۷۴**	۰/۸۰**
۶- کلروفیل B						۱	۰/۸۱**	۰/۳۱ <sup>ns</sup>	۰/۴۰*	۰/۵۴**	۰/۶۵**
۷- کلروفیل A+B					۱	۰/۹۰**	۰/۹۹**	۰/۵۴**	۰/۵۴**	۰/۷۱**	۰/۷۹**
۸- کارتنوئید				۱	۰/۷۲**	۰/۵۹**	۰/۷۵**	۰/۵۱*	۰/۳۹*	۰/۶۳**	۰/۷۱**
۹- عملکرد بذر			۱	۰/۶۷**	۰/۷۰**	۰/۴۲*	۰/۷۸**	۰/۶۴**	۰/۶۵**	۰/۸۲**	۰/۷۵**
۱۰- عملکرد گلبرگ		۱	-۰/۱۸ <sup>ns</sup>	-۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۸ <sup>ns</sup>	۰/۳۱ <sup>ns</sup>	۰/۱۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۴ <sup>ns</sup>	-۰/۰۲ <sup>ns</sup>	-۰/۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۱ <sup>ns</sup>
۱۱- شاخص حساسیت به خشکی گلبرگ	۱	-۰/۱۶ <sup>ns</sup>	-۰/۹۰**	-۰/۷۲**	-۰/۷۴**	-۰/۶۴**	-۰/۷۷**	-۰/۶۵**	-۰/۶۳**	-۰/۷۷**	-۰/۸۹**
۱۲- شاخص حساسیت به خشکی بذر	۰/۹۹**	-۰/۱۵ <sup>ns</sup>	-۰/۹۰**	-۰/۷۳**	-۰/۷۵**	-۰/۶۵**	-۰/۷۸**	-۰/۶۵**	-۰/۶۵**	-۰/۷۹**	-۰/۸۹**

داشت، به‌طوریکه ژنوتیپ "Gitana" ۵۴/۵ درصد افزایش را نشان داد در حالیکه ژنوتیپ "تهران" ۳۵/۸ درصد کاهش را نشان داد (شکل a ۴). تحت تنش شدید رطوبتی نیز تغییرات محتوای کارتنوئید متنوع بوده و از ۵۰/۷ درصد کاهش در ژنوتیپ "اصفهان ۳" تا ۱/۷ درصد افزایش در ژنوتیپ "اصفهان ۲" متغیر است (شکل a ۴).

تغییرات محتوای کارتنوئید تحت تأثیر تنش نیز بستگی به طول مدت و شدت تنش خشکی دارد به‌طوریکه Jeyaramraja و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که تنش ملائم آب سبب افزایش کارتنوئیدها و کلروفیل در چای شده درحالیکه کمبود شدید آب موجب کاهش مقدار کارتنوئیدها و کلروفیل گردید که با توجه به افزایش محتوای کارتنوئید اکثر ژنوتیپ‌های این تحقیق در تنش متوسط و کاهش در تنش شدید نتایج به‌دست آمده با پژوهش‌های پیشین کاملاً مطابقت دارد. داده‌های این تحقیق نیز وابستگی تغییرات محتوای کارتنوئید به ژنوتیپ و

موجود همیشه‌بهار را ایفا کرده‌اند. ژنوتیپ متحمل "اهواز" با دارابودن مقادیر بالای پرولین برگ و کربوهیدرات‌های محلول RWC بالاتری را حفظ کرده است (شکل ۳).

محتوای کارتنوئید در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر رژیم‌های آبیاری قرار گرفت (جدول ۱). با کاهش رطوبت خاک (I2) محتوای کارتنوئید ۱۲/۵ درصد افزایش پیدا کرد ولی با تشدید تنش خشکی (I3) ۲۲/۹ درصد از محتوای کارتنوئید نسبت به II کاسته شد (جدول ۲). محتوای کارتنوئید ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بوده و بیشترین محتوای کارتنوئید (۰/۲۷۹ میلی‌گرم در گرم) مربوط به ژنوتیپ "اهواز" و کمترین مقدار آن (۰/۱۹۹ میلی‌گرم در گرم) نیز در ژنوتیپ‌های "Zen-gold" و "اصفهان ۳" مشاهده شد (جدول ۲). تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر محتوای کارتنوئید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک (I2) محتوای کارتنوئید اکثر ژنوتیپ‌ها روند افزایشی



شکل ۴- برهمکنش سطوح خشکی و ژنوتیپ بر (a) مقدار کارتنوئید، (b) کلروفیل کل، (c) عملکرد گلبرگ (d) عملکرد بذر همیشه‌بهار

کارتنوئید و شاخص حساسیت به خشکی (\*\*۰/۷۳) نشان‌دهنده نقش حفاظتی این رنگیزه در سیستم فتوسنتزی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار است (جدول ۳). ژنوتیپ‌های متحمل (‘اهواز’ و ‘اصفهان ۲’) نسبت به ژنوتیپ‌های حساس به خشکی (‘اصفهان ۳’ و

شدت تنش خشکی را نشان می‌دهد. کارتنوئیدها با نقش حفاظتی که در سیستم فتوسنتزی ایفا می‌کنند در برخی موارد همبستگی بالایی را با شاخص‌های تحمل به خشکی نشان می‌دهند (Kadkhodaie et al., 2014 a; Maghsoodi and Razmjoo, 2015). در اینجا نیز همبستگی منفی و بالایی

چگالی برگ باشد. در بررسی واریته‌های نخود تحت شرایط تنش Mafakheri و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که کاهش محتوای کلروفیل a، b و کل در مرحله گرده‌افشانی بیشتر از دوره رشد رویشی است. به‌طور کلی میزان کاهش کلروفیل ناشی از تنش بستگی به ژنوتیپ، طول مدت و شدت تنش خشکی دارد به طوری که Mutava و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده کردند که با افزایش شدت تنش از مقادیر کلروفیل a و b در اغلب ژنوتیپ‌های سویا کاسته شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار محتوای کارتنوئید با محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (جدول ۳) و حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی در ژنوتیپ "اهواز"، نقش حفاظتی کارتنوئید بیشتر ملاحظه می‌گردد. به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ "تهران" نیز به‌واسطه افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و همچنین عدم فعالیت مناسب سیستم حفاظتی (کارتنوئید و آنزیم‌های آنتی-اکسیدان) بیشتر تحت تأثیر تنش قرار گرفته است.

عملکرد گلبرگ در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر رژیم‌های آبیاری قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش تنش خشکی از عملکرد گلبرگ کاسته شد به‌طوری‌که در مقایسه تیمارهای آبیاری I2 و I3 با I1 عملکرد گلبرگ به‌ترتیب ۱۹/۴ و ۵۴/۴ کاهش یافت (جدول ۲). بین ژنوتیپ‌های مختلف همیشه‌بهار نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد (جدول ۱). در مقایسه ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار، ژنوتیپ "Candy-man" با ۱۳۵۳/۷ کیلوگرم در هکتار بیشترین مقدار عملکرد گلبرگ و ژنوتیپ "تهران" با ۳۹۸/۰ کیلوگرم در هکتار کمترین عملکرد گلبرگ را تولید کرد (جدول ۲). علاوه بر این تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر عملکرد گلبرگ نیز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک در سطح تنش ملایم (I2)، کمترین (۱۴/۰ درصد) و بیشترین (۲۶/۵ درصد) کاهش عملکرد گلبرگ به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های "اهواز" و "تهران" مشاهده شد و تحت تنش شدید (I3) نیز کمترین (۳۰/۳ درصد) و بیشترین (۶۹/۵ درصد) کاهش عملکرد گلبرگ به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های "اهواز" و "اصفهان" مشاهده شد (شکل c ۴).

"اصفهان" دارای مقادیر بیشتر کارتنوئید بوده که نقش حفاظتی کارتنوئید در سیستم فتوسنتزی را نشان می‌دهد.

محتوای کلروفیل a و کلروفیل b به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد تحت تأثیر رژیم‌های آبیاری قرار گرفتند (جدول ۱). با کاهش رطوبت خاک (I2) افزایش جزئی در محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی ایجاد شد ولی با تشدید تنش (I3) از مقدار این رنگیزه‌ها به‌طور معنی‌داری کاسته شد. به‌طوری‌که محتوای کلروفیل a، b و کل به‌ترتیب ۱۷/۶ درصد، ۱۶/۷ درصد و ۱۷/۴ درصد نسبت به II کاسته شد (جدول ۲). محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی ژنوتیپ‌های مختلف در سطح احتمال پنج درصد متفاوت بوده و بیشترین محتوای کلروفیل a (۰/۷۴ میلی‌گرم در گرم)، کلروفیل b (۰/۲۹۱ میلی‌گرم در گرم) و کل (۱/۰۰ میلی‌گرم در گرم) به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های "اهواز"، "Candy-man" و "اهواز" بود (جدول ۲). ژنوتیپ "Zen-gold" نیز کمترین مقادیر کلروفیل a، b و کل را دارا بود (جدول ۲). تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر کلروفیل a، b و a+b در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک (I2) بیشترین افزایش مجموع کلروفیل a، b (a+b) (۳۵/۹ درصد) در ژنوتیپ "Zen-gold" مشاهده شد در حالیکه در همین شرایط ژنوتیپ "تهران" ۲۳/۷ درصد کاهش را در مجموع کلروفیل a و b نشان داد (شکل b ۴). با تشدید تنش خشکی بیشترین افزایش در مجموع مقادیر کلروفیل a و b با ۳ درصد افزایش در ژنوتیپ "اهواز" مشاهده شد و ژنوتیپ "تهران" بیشترین کاهش (۴۲/۸ درصد) را نشان داد (شکل b ۴).

کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی ممکن است به‌واسطه تخریب پروتئین‌های غشاء تیلاکوئید، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و اختلال در فعالیت آنزیم‌های سنتز کلروفیل باشد (Kaiser et al., 1981). Mohsenzadeh و همکاران (۲۰۰۶) کاهش میزان کلروفیل a و b آفتابگردان تحت تنش خشکی را به تخریب کلروپلاست مرتبط دانستند. Ahmadi و Ceioceмарdeh (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که افزایش محتوای کلروفیل در تنش خشکی خفیف می‌تواند در اثر افزایش

نیز بین ژنوتیپ‌های مختلف همیشه‌بهار از نظر تولید بذر مشاهده شد (جدول ۱). با افزایش تنش خشکی از مقادیر عملکرد بذر کاسته شد به‌طوری‌که در مقایسه تیمارهای آبیاری I2 و I3 با I1 عملکرد بذر به‌ترتیب ۲۰/۹ و ۳۶/۳ درصد کاهش یافت (جدول ۲). در مقایسه ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار ژنوتیپ "اهواز" با ۳۸۴۵/۹ کیلوگرم در هکتار بیشترین مقدار عملکرد بذر و ژنوتیپ "Zen-gold" با ۱۲۹۳/۰ کیلوگرم در هکتار کمترین عملکرد بذر را تولید کرد (جدول ۲). تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و ژنوتیپ بر عملکرد بذر معنی‌دار نبود (جدول ۱).

نتایج بررسی اثر کم‌آبی روی همیشه‌بهار (جعفرزاده و همکاران، ۱۳۹۳)، رازیانه (Zali and Ehsanzadeh, 2018) و زیره (Alinian et al., 2016) نشان داد که علیرغم افزایش شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل، با تشدید تنش خشکی از مقدار عملکرد به‌طور معنی‌داری کاسته شد. با کاهش رطوبت گیاه فشار تورژسانس سلول‌ها و در نتیجه توسعه برگ‌ها کاهش می‌یابد که در کنار کاهش فتوسنتز ناشی از بسته‌شدن روزنه‌ها رشد گیاه متوقف می‌شود و با پیشروی تنش خشکی کاهش رشد افزایش یافته و بقای گیاه مطرح می‌گردد. علاوه بر این ممکن است کاهش دسترسی به عناصر غذایی به‌همراه کاهش انتقال مواد فتوسنتزی از منبع به مقصد از دلایل کاهش عملکرد تحت شرایط تنش خشکی باشد (Farooq et al., 2009). در شرایط تنش ژنوتیپ‌های متحمل ("اهواز"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۱")، به‌واسطه تنظیم اسمزی بهتر و نقش حفاظتی کارتنوئید کمتر از ژنوتیپ‌های حساس ("اصفهان ۴"، "Zen-gold" و "اصفهان ۳") تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته‌اند. در اینجا با تشدید تنش علاوه بر کاهش RWC و رنگیزه‌های فتوسنتزی روند افزایشی فاکتورهای تنظیم اسمزی (کربوهیدرات‌های محلول و پرولین) نیز در گیاه کاهش می‌یابد (شکل ۳). به‌نظر می‌رسد گیاه در شرایط تنش شدید به دلیل کاهش مواد فتوسنتزی امکان سرمایه‌گذاری بیشتر در مکانیزم‌های حفاظتی را نداشته و کاهش عملکرد در این شرایط به مراتب بیشتر از تنش متوسط گردیده است.

ژنوتیپ، درجه حرارت، رطوبت و عوامل متعدد دیگری بر فرایند تشکیل شاخه گل‌دهنده، تولید گل و رشد گل و در نتیجه عملکرد گلبرگ تأثیر دارند. تحت شرایط تنش خشکی مقدار کاهش عملکرد متأثر از ژنوتیپ، شدت تنش و مرحله نمو است. جعفرزاده و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه مزرعه‌ای کاهش ۶۰ درصدی عملکرد گل همیشه‌بهار را تحت تنش شدید خشکی گزارش نمودند. به‌نظر می‌رسد کاهش رشد عمومی گیاه، سطح برگ و انتقال مواد فتوسنتزی به سمت گل‌ها سبب کاهش تعداد و وزن گل‌ها گردید و در نتیجه عملکرد گل تحت تنش کاهش یافت. علاوه بر این، تعداد گل‌های ژنوتیپ‌های پرپر ("Candy-man"، "Gitana" و "Zen-gold") کمتر ولی درشت‌تر از ژنوتیپ‌های کم‌پر است به همین دلیل در مواجهه با تنش خشکی با کاهش عملکرد بیشتری روبرو شدند به‌طوری‌که در این ژنوتیپ‌ها بیش از ۶۰ درصد کاهش عملکرد مشاهده شد (شکل d ۴).

ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار موجود از دو نوع کم‌پر و پرپر هستند. کاپیتول ژنوتیپ‌های کم‌پر سه نوع بذر (بالدار (Winged)، قلاب‌مانند (Hooked) و لارومانند (Larval)) تولید می‌کند ولی کاپیتول ژنوتیپ‌های پرپر یک نوع بذر لارو مانند تولید می‌کند که از نظر وزن و اندازه کوچک‌تر از دو نوع بذر دیگر است (Cromack and Smith, 1998). در شرایط بدون تنش اغلب ژنوتیپ‌های کم‌پر ("اهواز"، "تهران"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۴")، عملکرد گلبرگ پایینی دارند ولی از نظر تولید بذر برتری دارند در حالیکه ژنوتیپ‌های پرپر ("Candy-man"، "Gitana" و "Zen-gold") عملکرد گلبرگ بالایی داشته ولی عملکرد بذر آنها پایین است. ژنوتیپ‌های "اصفهان ۱" و "اصفهان ۳" که مخلوطی از انواع کم‌پر و پرپر هستند عملکرد گلبرگ و بذر متوسطی تولید کردند. علاوه بر این ژنوتیپ‌های "Candy-man"، "Gitana" و "Zen-gold" دیررس‌تر بوده و دوره پرشدن دانه آنها که با گرمای آخر فصل مواجه شده بود کوتاه‌تر شد و عملکرد آنها کاهش یافت. عملکرد بذر در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری قرار گرفت و تفاوت قابل ملاحظه‌ای

جدول ۴- شاخص حساسیت به خشکی ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار براساس کاهش عملکرد گل و بذر در تنش شدید خشکی

اصفهان ۳	Zen-gold	اصفهان ۴	Gitana	Candy-man	تهران	اصفهان ۱	اصفهان ۲	اهواز	SSI
۱/۳۷	۱/۳۶	۱/۲۰	۱/۱۱	۱/۰۷	۱/۰۷	۰/۸۲	۰/۶۲	۰/۶۰	گلبرگ
۱/۴۸	۱/۴۳	۱/۳۴	۱/۲۲	۱/۱۹	۱/۱۴	۰/۹۱	۰/۷۳	۰/۷۰	بذر

محلول همیشه‌بهار افزایش پیدا می‌کند به‌طوری‌که علاوه بر همبستگی بالای این صفات با هم همبستگی بالایی با RWC و شاخص حساسیت به خشکی نیز مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهند که ژنوتیپ‌ها تفاوت قابل ملاحظه‌ای در عکس‌العمل به شرایط خشکی داشته و از نظر توانایی تولید و یا تجمع عوامل تنظیم اسمزی با هم متفاوت هستند. علاوه بر افزایش ترکیبات اسمزی، توانایی حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌ویژه کارتنوئیدها نقش بسزایی در تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌ها دارد. طبق اعداد شاخص حساسیت به خشکی ژنوتیپ‌ها بر اساس کاهش عملکرد گل و بذر در تنش شدید خشکی (I3)، ژنوتیپ‌های "اهواز"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۱" در گروه متحمل به خشکی، ژنوتیپ‌های "تهران"، "Candy-man"، "Gitana" در گروه نیمه‌متحمل به خشکی و "اصفهان ۴"، "Zen-gold" و "اصفهان ۳" در گروه ژنوتیپ‌های حساس به خشکی تقسیم‌بندی شدند. بیشترین عملکرد گلبرگ و بذر در شرایط آبیاری مطلوب (II) حاصل شد. ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر عملکرد بذر و گلبرگ با هم متفاوت هستند به طوری‌که ژنوتیپ "Candy-man" بیشترین عملکرد گلبرگ را در کلیه سطوح خشکی تولید کرد در حالیکه عملکرد بذر آن در کلیه سطوح بسیار پایین بود. ژنوتیپ "اهواز" نیز که بیشترین عملکرد بذر را در کلیه سطوح خشکی داشت از عملکرد گلبرگ پایینی برخوردار بود لذا انتخاب ژنوتیپ برتر باید براساس هدف تولید و شرایط کشت باشد.

**شاخص حساسیت به خشکی:** برای ارزیابی تحمل خشکی ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار شاخص حساسیت به خشکی (SSI) محاسبه شد که مقدار آن برای ژنوتیپ‌های مختلف متنوع بوده که براساس کاهش عملکرد گل و بذر در تیمار آبیاری I3 مقادیر آن در جدول ۴ نشان داده شده است. شاخص کمتر نشان‌دهنده تحمل بیشتر است. براساس این شاخص ژنوتیپ‌های "اهواز"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۱" در گروه متحمل به خشکی ژنوتیپ‌های "تهران"، "Candy-man"، "Gitana" در گروه نیمه‌متحمل به خشکی و "اصفهان ۴"، "Zen-gold" و "اصفهان ۳" در گروه ژنوتیپ‌های حساس به خشکی تقسیم‌بندی شدند. به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های گروه متحمل به خشکی با دارا بودن مقادیر نسبتاً بالاتر عوامل تنظیم اسمزی (کربوهیدرات‌های محلول و پرولین) (شکل ۳) توانسته‌اند رطوبت نسبی بالاتری را حفظ نموده و در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها تحمل بیشتری نشان دهند. علاوه بر این ژنوتیپ‌های همیشه‌بهار متحمل ("اهواز"، "اصفهان ۲" و "اصفهان ۱") با حفظ مقادیر بالاتر کارتنوئید، سیستم فتوسنتزی را از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت کرده و کاهش عملکرد را به حداقل برسانند این در حالی است که ژنوتیپ‌های حساس دارای مقادیر کمتر کربوهیدرات محلول، پرولین و کارتنوئید هستند.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که با تشدید تنش خشکی، ترکیبات دخیل در تنظیم اسمزی به‌ویژه کربوهیدرات‌های

#### منابع

امید بیگی، ر. (۱۳۸۵) رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد ۳، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد.

جعفرزاده، ل.، امید، ح. و بستانی، ع. (۱۳۹۳) بررسی تنش خشکی و کود زیستی نیتروژنه بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)، مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۷: ۱۸۰-۱۹۳.

سلطانی، گ. م. (۱۳۸۹) زراعت گیاهان دارویی کم آبخواه، توسعه کشاورزی پایدار در مناطق خشک و نیمه‌خشک. همایش ملی گیاهان دارویی، ساری، جهاد دانشگاهی واحد مازندران.

- Abedi, T. and Pakniyat, H. (2010) Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 46: 27-34.
- Ahmadi, A. and Ceiocemardeh, A. (2004) Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology* 35: 753-763.
- Alinian, S., Razmjoo, J. and Zeinali, H. (2016) Flavonoids, anthocynins, phenolics and essential oil produced in cumin (*Cuminum cyminum* L.) accessions under different irrigation regimes. *Industrial Crops and Products* 81: 49-55.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. and Smith, M. (1998) Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO irrigation and drainage FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Ashraf, M., Ahmad, A. and McNeilly, T. (2001) Growth and photosynthetic characteristics in pearl millet under water stress and different potassium supply. *Photosynthetica* 39: 389-394.
- Askari, E. and Ehsanzadeh, P. (2015a) Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum* 37: 4-18
- Askari, E. and Ehsanzadeh, P. (2015b) Osmoregulation-mediated differential responses of field-grown fennel genotypes to drought. *Industrial Crops and Products* 76: 494-508.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Cromack, H. and Smith, J. (1998) *Calendula officinalis*-production potential and crop agronomy in southern England. *Industrial Crops and Products* 7: 223-229.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management, Sustainable agriculture. Springer, Sustainable Agriculture 153-188.
- Fazeli, F., Ghorbanli, M. and Niknam, V. (2006) Effect of drought on water relations, growth and solute accumulation in two sesame cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9: 1829-1835.
- Fischer, R. and Maurer, R. (1978) Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research* 29: 897-912.
- Irigoyen, J., Einerich, D. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Jeyaramraja, P. R., Subramaniam, N. M., Kumar, R. S., Joshi, S. D. and Ramasubramanian, B. (2005) Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camellia sinensis*) plants. *Journal of Plant Physiology* 162: 413-420.
- Joly, R., Forcella, F., Peterson, D. and Eklund, J. (2013) Planting depth for oilseed calendula. *Industrial Crops and Products* 42: 133-136.
- Kadkhodaie, A., Razmjoo, J., Zahedi, M. and Pesarakli, M. (2014a) Selecting sesame genotypes for drought tolerance based on some physiochemical traits. *Agronomy Journal* 106: 111-118.
- Kadkhodaie, A., Zahedi, M., Razmjoo, J., Pesarakli, M. (2014b) Changes in some anti-oxidative enzymes and physiological indices among sesame genotypes (*Sesamum indicum* L.) in response to soil water deficits under field conditions. *Acta Physiologiae Plantarum* 36: 641-650.
- Kaiser, W. M., Kaiser, G., Schoner, S. and Neimanis, S. (1981) Photosynthesis under osmotic stress: differential recovery of photosynthetic activities of stroma enzymes, intact chloroplasts, protoplasts, and leaf slices after exposure to high solute concentrations. *Planta* 430-435.
- Li-Ping, B., Fang-Gong, S., Ti-Da, G., Zhao-Hui, S., Yin-Yan, L. and Guang-Sheng, Z. (2006) Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize1. *Pedosphere* 16: 326-332.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (1): F4.3.1-F4.3.8.
- Lim, T. K. (2012) Edible medicinal and non-medicinal plants. 3<sup>rd</sup> Ed. Springer.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. and Sohrabi, Y. (2010) Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science* 4: 580.
- Maghsoodi, M. and Razmjoo, J. (2015) Identify physiological markers for drought tolerance in alfalfa. *Agronomy Journal* 107: 149-157.

- Mensah, J., Obadoni, B., Eruotor, P. and Onome-Irieguna, F. (2006) Simulated flooding and drought effects on germination, growth, and yield parameters of sesame (*Sesamum indicum* L.). African Journal of Biotechnology 5: 25-40.
- Mohsenzadeh, S., Malboobi, M., Razavi, K. and Farrahi-Aschtiani, S. (2006) Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. Environmental and Experimental Botany 56: 314-322.
- Moradshahi, A., Salehi, E. and Kholdebarin, B. (2004) Some physiological responses of canola (*Brassica napus* L.) to water deficit stress under laboratory conditions. Iranian Journal of Science and Technology (Sciences) 28: 43-50.
- Mostajeran, A. and Rahimi-Eichi, V. (2009) Effects of drought stress on growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves. Journal of Agriculture and Environmental Sciences 5: 264-272.
- Mutava, R. N., Prince, S. J. K., Syed, N. H., Song, L., Valliyodan, B., Chen, W. and Nguyen, H. T. (2015) Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: a comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. Plant Physiology and Biochemistry 86: 109-120.
- Najafabadi, M. Y. and Ehsanzadeh, P. (2017) Salicylic acid effects on osmoregulation and seed yield in drought-stressed sesame. Agronomy Journal 109: 1414-1422.
- Oliveira Neto, C. F. d., Lobato, A. K. d. S., Goncalves-Vidigal, M. C., Costa, R. C. L. d., Santos Filho, B. G. d., Alves, G. A. R., Maia, W., Cruz, F., Neves, H. and Lopes, M. S. (2009) Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. Journal of Food, Agriculture and Environment 7: 588-593.
- Parida, A. K., Dagaonkar, V. S., Phalak, M. S., Umalkar, G. and Aurangabadkar, L. P. (2007) Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. Plant Biotechnology Reports 1: 37-48.
- Pinhero, R. G., Rao, M. V., Paliyath, G., Murr, D. P. and Fletcher, R. A. (1997) Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. Plant Physiology 114: 695-704.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.
- Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F. and Mornhinweg, D. W. (1988) Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 526-531.
- Siddique, M., Hamid, A. and Islam, M. (2000) Drought stress effects on water relations of wheat. Botanical Bulletin of Academia Sinica 41: 35-39
- Silvente, S., Sobolev, A. P. and Lara, M. (2012) Metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive soybean genotypes in response to water stress. PLoS One 7: 38554.
- Smart, R. E. and Bingham, G. E. (1974) Rapid estimates of relative water content. Plant Physiology 53: 258-260.
- Zali, A. G. and Ehsanzadeh, P. (2018) Exogenously applied proline as a tool to enhance water use efficiency: Case of fennel. Agricultural Water Management 197: 138-146.



## Evaluation of some physiological and biochemical characteristics of pot marigold (*Calendula officinalis*) genotypes affected by irrigation regimes

Iman Ghadyeh Zarrinabadi<sup>1</sup>, Jamshid Razmjoo<sup>1\*</sup>, Alireza Abdali Mashhadi<sup>2</sup>, Hassan Karim mojeni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

<sup>2</sup> Department of Production and Genetics, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahwaz, Iran

(Received: 2018/05/12, Accepted: 2018/09/3)

### Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of water stress on soluble carbohydrates, root and leaf proline, photosynthetic pigments, petal and seed yield of pot marigold genotypes. The experiment was performed as split plots in randomized complete block design with three replications. Three irrigation regimes (35%, 60% and 85% of available soil water depletion) designed as main plot and nine pot marigold genotypes (Ahvaz, Tehran, Isfahan 1, Isfahan 2, Candy-man, Gitana, Zen-Gold, Isfahan 3, Isfahan 4) were evaluated as sub-plot in Ahvaz in 1394-95 growing season. The results showed the effect of irrigation regimes and genotype were significant on the studied traits, petal and seed yield. Due to drought stress, the content of carbohydrates, roots and leaf proline increased but RWC, carotenoid, chlorophyll a, b and a + b, petal and seed yield of genotypes decreased significantly. The results showed high correlation between soluble carbohydrates and leaf proline content with RWC and drought sensitivity index. Resistant genotypes had the highest content of soluble carbohydrates, leaf proline and carotenoid. Based on drought sensitivity index, "Ahvaz", "Isfahan 2" and "Isfahan 1" genotypes were divided in drought resistant group, "Tehran", "Candy-man", "Gitana" in moderately resistant group and "Isfahan 4", "Zen-gold" and "Isfahan 3" in sensitive group. "Candy-man" and "Ahvaz" genotype produced the highest petal and seed yield, respectively, at all drought levels.

**Keywords:** Irrigation regimes, Photosynthesis pigments, Pot marigold, Proline content, Soluble carbohydrates