



اثرات تنش خشکی و تراکم کاشت بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دو اکوتیپ سیر (*Allium sativum* L.)

شیوا اکبری^۱ - محمد کافی^{۲*} - شهرام رضوان بیدختی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۰۶

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده می‌باشد که اثرات نامطلوبی در تولیدات گیاهی دارد. سیر به علت دارا بودن خواص دارویی بی‌شمار، از گیاهان مهم دارویی به‌شمار می‌رود. به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی و تراکم بر محتوی نسبی آب برگ، محتوی پرولین، قندهای محلول، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، نسبت کلروفیل *a/b*، کلروفیل کل، کاروتنوئید و نسبت کاروتنوئید به کلروفیل دو اکوتیپ سیر، آزمایشی به‌صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شهرستان سمنان انجام شد. در این آزمایش سه سطح تنش خشکی براساس ۶۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی سیر در شرایط اقلیمی سمنان و به‌همراه تیمار شاهد (۱۰۰ درصد نیاز آبی)، به‌عنوان عامل اصلی و ترکیب فاکتوریل از تراکم در سه سطح (۳۰ - ۴۰ و ۵۰ بوته در مترمربع) و رقم در ۲ سطح طرود و طیس به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. تراکم کاشت، اثر معنی‌داری بر هیچ‌یک از صفات نداشت. اعمال تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در محتوی نسبی آب برگ شد. اکوتیپ طیس دارای محتوی نسبی آب بالاتری نسبت به اکوتیپ طرود بود. در اثر تنش، محتوی قندهای محلول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما مقدار پرولین تغییر معنی‌داری نشان نداد. در سطوح مختلف آبیاری، تفاوت معنی‌داری در مقادیر کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل مشاهده نشد؛ در صورتی که این صفات و مقدار کاروتنوئید به‌صورت معنی‌داری در اکوتیپ طیس بالاتر از اکوتیپ طرود بود. با تشدید تنش خشکی به سطح ۶۰ درصد نیاز آبی، مقدار کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، پرولین، قندهای محلول، کلروفیل، نیاز آبی

مقدمه

خشکی می‌باشد (Mousavifar *et al.*, 2011). تنظیم اسمزی یکی از مهم‌ترین مؤلفه‌های تحمل به خشکی است (Farshadfar and Mohammadi, 2003). یکی از راه‌کارهای مناسب گیاهان در پاسخ به تنش خشکی، افزایش مواد محلول و فعال اسمزی است که با حفظ خاصیت آب‌گیری و تورژسانس سلول، انجام فرایندهای متابولیسمی را از خطرات کمبود آب ایمن می‌سازد که از جمله این ترکیبات می‌توان به کربوهیدرات‌ها، قندها، پلی‌ساکاریدها و اسیدهای آمینه اشاره کرد (Jones *et al.*, 1980). تجمع قندها تحت تنش خشکی باعث استحکام و ثبات بخشیدن به غشاء سلولی و مانع از هم‌پاشیدن غشاء سلولی نیز می‌شود (Xoconostle-Cazares *et al.*, 2010). در ارتباط با اسیدآمینه پرولین نیز گزارش شده است که، این ماده منجر به حفظ فشار تورژسانس و کاهش خسارت غشاء در گیاهان می‌شود و بدین ترتیب در تنظیم اسمزی یک سازگاری برای افزایش تحمل به خشکی می‌باشد (Nasari *et al.*, 2011). با این وجود گزارشات متناقضی نیز در ارتباط با تجمع پرولین در گیاهان گزارش گردیده و به‌عنوان مثال گزارش شده است که در تنش طولانی مدت اثرات مفید پرولین بروز نخواهد کرد و تجمع آن حتی اثر منفی نیز بر رشد مطلوب گیاه خواهد گذاشت، زیرا منابع فتوسنتزی گیاه را به سمت

تنش‌های محیطی نقش مهمی در الگوی پراکنش گیاهی در سطح جهان دارند و تنش خشکی نیز به سهم خود تعیین‌کننده بخش زیادی از این پراکنش است (Kafi *et al.*, 2009). تنش خشکی مهم‌ترین عامل محیطی محدودکننده رشد و نمو گیاهان در سراسر دنیا می‌باشد، به‌طوری که کاهش رشد در اثر تنش خشکی به مراتب بیش‌تر از سایر تنش‌های محیطی است (Veisipoor *et al.*, 2012). در پاسخ به تنش‌های ایجاد شده، گیاه در ابعاد مختلف تغییراتی اعمال می‌نماید که استرین^۴ نامیده می‌شود. برخی مطالعات حاکی از قابل‌اطمینان بودن محتوی نسبی آب به‌عنوان شاخص تحمل به

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان

۲- استاد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی

۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان

۴- نویسنده مسئول: (Email: m.kafi@um.ac.ir)

4- Strain

DOI: 10.22067/gsc.v14i4.41406

بود. آزمایش به صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این آزمایش سه سطح تنش خشکی براساس ۶۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی (ETc) سیر در شرایط اقلیمی سمنان و به همراه تیمار شاهد (۱۰۰ درصد نیاز آبی)، به عنوان عامل اصلی و ترکیب فاکتوریل از تراکم در سه سطح (۳۰ - ۴۰ و ۵۰ بوته در مترمربع) و رقم در ۲ سطح طرود و طیس به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. برای محاسبه نیاز آبی سیر، از پارامترهای هواشناسی روزانه ثبت شده در ایستگاه سینوپتیک سمنان استفاده و نیاز آبی بر پایه دستورالعمل محاسبه آب مورد نیاز گیاهان فائو-۵۶ تعیین شد. برای محاسبه تبخیر و تعرق مرجع از معادله پنمن-مونتیت فائو-۵۶ استفاده شد (Allen et al., 1998). حجم آبیاری لازم برای سطوح مختلف تأمین نیاز آبی توسط اندازه‌گیری دقیق به وسیله کنتور حجمی با دقت ۰/۰۰۱ مترمکعب اعمال شد.

برای اندازه‌گیری محتوی قندهای محلول، مقدار پرولین و رنگیزه‌های برگ، نمونه‌ها به صورت تصادفی از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه یافته از هر تیمار، یک ماه قبل از برداشت نهایی انتخاب گردیدند. قندهای محلول با استفاده از روش فنول-سولفوریک اسید اندازه‌گیری گردید و میزان جذب به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت شد (Buysee and Mercks, 1993). مقدار پرولین نیز با استفاده از روش Bates et al., 1973، اندازه‌گیری شد و میزان تجمع پرولین از یک منحنی استاندارد معین شده و بر اساس معادله ۱ مبتنی بر وزن تر محاسبه شد:

$$(۱) \quad \mu\text{moles proline / g of fresh weight material} = \frac{[(\mu\text{g proline/ml} \times \text{ml toluene}) / 115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mole}]}{\text{gr sample} / 5}$$

میزان تجمع رنگدانه‌ها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) از طریق معادله‌های زیر محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987; Lichtenthaler and Bushmann, 2001):

$$(۲) \quad \text{Chlorophyll}(a) = \frac{[(12.25 \times \text{Abs663}) - (2.79 \times \text{Abs645})] \times \text{mlAcetone}}{\text{mgLeaf}}$$

$$(۳) \quad \text{Chlorophyll}(b) = \frac{[21.5 \times \text{Abs645}] - (5.1 \times \text{Abs663}) \times \text{mlAcetone}}{\text{mgLeaf}}$$

$$(۴) \quad \text{Carotenoids} = \frac{[(1000 \times \text{Abs470}) - (1.82 \times \text{Chl}a) - (85.02 \times \text{Chl}b)] \times \text{mlAcetone}}{\text{mgLeaf} \times 198}$$

که در آن‌ها Abs470، Abs663، Abs645 به ترتیب مربوط به طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر بوده و Chl b، Chl a و Chl b نمایانگر میزان تجمع کلروفیل a و کلروفیل b می‌باشند.

محتوی نسبی آب برگ با استفاده از معادله زیر اندازه‌گیری شد

فرایندهایی غیر از موارد دخیل در رشد مطلوب‌تر و سازگاری بالاتر، منحرف می‌کند (Sanchez et al., 1998). کلروپلاست و رنگیزه‌های موجود در آن نیز از خشکی تأثیر می‌پذیرند. میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ از جمله صفات فیزیولوژیک مهم هستند که تحت تنش خشکی، تغییر می‌یابند (Abedi Baba Arabi et al., 2011). تراکم بوته یکی از عواملی است که تأثیر بسزایی بر رشد گیاه دارد، به طوری که در تراکم مطلوب، عوامل محیطی مثل آب، هوا، نور و خاک به نحو مناسب‌تری در اختیار گیاه قرار می‌گیرند و در عین حال رقابت‌های بین بوته‌ای به کمترین میزان می‌رسد (Khajeh-pour, 2008). همان‌طور که گزارش شده است، افزایش تراکم سبب حصول عملکرد بالاتر در پیاز موسیر (*Allium altissimum*) شده است که این امر ناشی از بهره‌وری بهتر از منابع در اختیار در صورت اعمال تراکم مناسب بوده است (Kafi et al., 2008). همچنین در رابطه با پیاز (*Allium cepa*) گزارش شده است که اعمال تراکم مناسب باعث کاهش خوابیدگی ساقه‌های پیاز و ورس در مناطق بادخیز می‌شود (Mirshekari and Mobasher, 2010).

سیر گیاهی است که اهمیت ویژه‌ای را از لحاظ غذایی و دارویی در زندگی انسان‌ها دارا بوده و بر اساس خصوصیات و اثرات متفاوت آن، به عنوان یک ماده غذایی بازدارنده از بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شود. از جمله اثرات درمانی آن می‌توان به خصوصیات ضد انعقاد خون، ضد فشار خون، ضد میکروبی، پایین‌آورنده کلسترول و قند خون اشاره کرد (Bozin et al., 2008). ایران از لحاظ کشت و مصرف سیر قدمت طولانی دارد (Baghalian et al., 2004). گزارش شده است که سیر در مراحل میانی و نهایی رشد حساس به کمبود آب است (Hanson et al., 2003).

هدف از این تحقیق، بررسی اثر تنش خشکی و تراکم کاشت بر برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دو اکوتیپ سیر طیس و سیر طرود و تعیین اکوتیپ مقاوم‌تر بود.

مواد و روش

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه‌ای واقع در شهرستان سمنان، با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۳ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۲۳ دقیقه و ارتفاع ۱۱۲۷ متری از سطح دریا اجرا شد. جهت آماده‌سازی زمین، ابتدا زمین را شخم زده و برای خرد کردن کلوخ‌ها و تسطیح از دیسک استفاده شد و سپس توسط شیارساز پشته‌هایی با فواصل ۳۵ سانتی‌متر ایجاد شد. کشت در ۲۸ آبان‌ماه ۱۳۹۰ به صورت دستی و بر اساس تراکم‌های موردنظر انجام گردید. هر کرت فرعی دارای مساحتی برابر با ۹ (۳×۳) متر مربع و هشت ردیف کاشت با فواصل بین ردیف ۳۵ سانتی‌متر و هر تکرار شامل سه کرت اصلی و هر کرت اصلی در برگرفته شش کرت فرعی

(Zhu et al., 2002).

$$RWC = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} \times 100 \quad (5)$$

که در معادله فوق، RWC محتوی نسبی آب، FW وزن تر، DW وزن خشک و TW وزن آماس می‌باشد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS 9.1 و MSTAT-C تجزیه شدند. برای مقایسات میانگین از روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در مقدار قندهای محلول گردید (جدول ۲). تحت شرایط تنش خشکی، گیاه از طریق افزایش محتوی قندهای محلول و تنظیم اسمزی، قادر خواهد بود که شرایط تنش را تحمل نماید. این امر در رابطه با ۴۹ واریته نخود (Cicer arietinum) که با تنش خشکی مواجه گردیده بودند نیز گزارش شده است که در مواجهه با کم‌آبی مقادیر قندهای محلول در آن‌ها افزایش یافته است (Sanchez et al., 1998). افزایش مقادیر قندهای محلول در برگ‌ها در پاسخ به تنش خشکی، می‌تواند به دلیل انتقال کمتر این مواد از برگ‌ها به محل‌های دیگر، مصرف آهسته‌تر این مواد به علت کاهش رشد و یا تغییرات دیگری همچون هیدرولیز نشاسته، تحت این شرایط باشد (Kameli and LoEsel, 1996). افزایش مقادیر قندهای محلول با میزان تحمل گیاه تحت شرایط تنش خشکی مرتبط می‌باشد (Hoekstra and Buitink, 2001). به‌عنوان یک عامل اسمزی، افزایش قندها در اثر تنش خشکی، به‌طور معنی‌داری با تنظیم اسمزی و حفظ فشار تورگر مرتبط می‌باشند (Sanchez et al., 1998). همان‌طور که ذکر شد، محتوی قندهای محلول تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافت. این افزایش نقش قابل توجهی در تحمل گیاه تحت تنش خشکی ایفا کرد. مقدار قندهای محلول موجود در دو اکوتیپ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱). هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در مقدار قندهای محلول دو اکوتیپ تحت سطوح مختلف آبیاری مشاهده نشد (جدول ۱)؛ که این امر نشان‌دهنده این است که هر دو اکوتیپ در رابطه با تجمع قندهای محلول در راستای ایجاد تحمل تحت شرایط تنش خشکی، یا یکدیگر مشابه بودند و نسبت به هم برتری نداشتند. اثر تراکم کاشت نیز بر مقدار قندهای محلول برگ اثر معنی‌داری نداشت، اما اثر متقابل تنش خشکی و تراکم کاشت در سطح $(P \leq 0.05)$ و اثر متقابل تنش خشکی و اکوتیپ و تراکم کاشت در سطح $(P \leq 0.001)$ بر مقدار قندهای محلول برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). تنش خشکی، اکوتیپ و تراکم کاشت، هیچ‌یک اثر معنی‌داری بر محتوی پرولین برگ نداشتند (جدول ۱). طی آزمایشاتی بر روی چهار رقم پیاز خوراکی نیز چنین

گزارش شده که مقدار پرولین اندازه‌گیری شده در اندام هوایی و ریشه تحت تأثیر تنش خشکی با یکدیگر کاملاً متفاوت بوده و از هیچ‌گونه الگوی خاصی پیروی نمی‌کند و تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی برخی ارقام شد ولی مقدار این اسیدآمین در ریشه و اندام هوایی ارقام دیگری از پیاز خوراکی تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت (Arvin and Kazemi-pour, 2003). با توجه به نتایج حاصل در این تحقیق، میتوان چنین احتمال داد که القای تجمع بیش‌تر پرولین در سیر نیاز به تنش خشکی شدیدتری دارد و یا در گیاه سیر، صفت تجمع پرولین برای تعیین حساسیت گیاه به تنش خشکی چندان مناسب نبود. اثر متقابل تنش خشکی و اکوتیپ و تراکم کاشت در سطح احتمال $(P \leq 0.01)$ بر محتوی پرولین اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). تنش خشکی و تراکم کاشت، اثر معنی‌داری بر کلروفیل a ، کلروفیل b ، نسبت کلروفیل a/b ، کلروفیل کل و نسبت کاروتنوئید به کلروفیل نداشتند (جدول ۱). در بین دو اکوتیپ سیر، تفاوت معنی‌داری در مقادیر کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل مشاهده شد، بدین‌صورت که این مقادیر به‌طور معنی‌داری در اکوتیپ طبس بیش‌تر از اکوتیپ طرود بود (جدول ۳). مقدار کاروتنوئید به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۱). مقدار کاروتنوئید در تیمار ۸۰ درصد نیاز آبی نسبت به تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی (تیمار شاهد)، کمی افزایش یافت اما با تشدید تنش خشکی به سطح ۶۰ درصد نیاز آبی این مقدار به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). گزارشات مشابهی نیز حاکی از این است که در گیاه آفتابگردان محتوی کاروتنوئید تحت شرایط تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Manivannan et al., 2007). در مطالعه دیگری چنین گزارش شد که محتوی کاروتنوئید با افزایش تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد، کاهش معنی‌داری یافت (Manoharan et al., 2010). کاهش محتوی کاروتنوئیدها می‌تواند به دلیل اکسید شدن آن‌ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن‌ها باشد. هم‌چنین بررسی روی زیتون نشان داد که مقدار کاروتنوئید با افزایش تنش خشکی کاهش یافت (Ben Ahmed et al., 2009). هم‌چنین گزارش شده است که تنش خشکی باعث کاهش محتوی کاروتنوئید در گیاه سیر شد (Bideshki et al., 2012). اکوتیپ طبس به‌طور معنی‌داری حاوی مقدار کاروتنوئید بیش‌تری نسبت به اکوتیپ طرود بود (جدول ۳). هم‌چنین اثر متقابل اکوتیپ و تراکم کاشت در سطح $(P \leq 0.05)$ بر کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۴) و اثر متقابل تنش خشکی و اکوتیپ و تراکم کاشت بر مقدار کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح $(P \leq 0.05)$ معنی‌دار گردید (جدول ۱). نسبت کاروتنوئید به کلروفیل نیز به‌طور معنی‌داری در سطح $(P \leq 0.01)$ تحت اثر متقابل اکوتیپ و تراکم کاشت قرار گرفت (جدول ۱ و ۴). تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش محتوی نسبی آب برگ گردید (جدول ۲). مقایسات میانگین نشان داد

برگ‌ها تحت شرایط تنش خشکی افزایش پیدا کرد که این امر سبب تنظیم اسمزی گردیده و در نتیجه با کاهش پتانسیل اسمزی از کاهش بیش از حد محتوی نسبی آب بافت‌ها جلوگیری نمود. این افزایش در مقادیر مواد محلول سازگار در زمان کاهش محتوی نسبی آب برگ در اثر مواجهه با تنش خشکی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Parameshwara *et al.*, 1990). تراکم کاشت اثر معنی‌داری بر محتوی نسبی آب برگ نداشت (جدول ۱). بین دو اکوتیپ تفاوت معنی‌داری در رابطه با محتوی نسبی آب برگ مشاهده شد بدین صورت که این مقدار در اکوتیپ طبس بیش تر از اکوتیپ طرود بود (جدول ۳).

که تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی (تیمار شاهد) به‌طور معنی‌داری دارای محتوی نسبی آب برگ بالاتری نسبت به دو تیمار آبیاری دیگر بود (جدول ۲). در مطالعه‌ای دیگر بر روی چهار وارسته گندم، چنین گزارش شد که محتوی نسبی آب برگ پس از اعمال تنش خشکی ۴۳ درصد (از ۸۸ درصد به ۴۵ درصد) کاهش یافت (Siddique *et al.*, 2000). اثرات کاهش آب و تنش خشکی می‌تواند از کاهش میزان فشار تورژسانس در برگ‌های گیاه که سبب خسارات جبران‌پذیری می‌باشد تا صدمات شدیدتر و پلاسمولیزاسیون سلولی که می‌تواند منجر به کریستاله‌شدن پروتئین‌ها شود را در پی داشته باشد (Kaiser, 1989). مطابق با نتایج این تحقیق، اگرچه محتوی نسبی آب برگ تحت اثر تنش خشکی کاهش یافت، اما محتوی قندهای محلول

جدول ۱- تجزیه واریانس مقدار قندهای محلول، پرولین، رنگیزه‌های گیاهی، محتوی نسبی آب برگ دواکوتیپ سیر تحت سطوح مختلف تنش خشکی در سه تراکم کاشت

Table 1- Analysis of variance of soluble sugar content, proline, pigments, leaf RWC of two garlic ecotypes under different drought levels in three planting densities.

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean Squares								محتوی نسبی آب RWC
		قندهای محلول Soluble sugars	پرولین Proline	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	نسبت کلروفیل a/b Chlorophyll a/b ratio	کاروتنوئید Carotenoid	نسبت کاروتنوئید به کلروفیل Carotenoid/ Chlorophyll	
تکرار Replication	2	162.62***	0.0006 ^{ns}	0.071*	0.0041**	0.109*	0.17 ^{ns}	0.0156***	0.0029*	0.51 ^{ns}
تنش خشکی Drought stress	2	36.40**	0.0058 ^{ns}	0.014 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	0.019 ^{ns}	1.88 ^{ns}	0.0018*	0.00005 ^{ns}	71.94*
خطای اصلی Main Error	4	0.92	0.0016	0.005	0.0001	0.006	1.29	0.0001	0.0002	8.24
اکوتیپ Ecotype	1	27.33 ^{ns}	0.0009 ^{ns}	0.51***	0.0888***	1.025***	3.21 ^{ns}	0.0641***	0.0007 ^{ns}	393.54***
تراکم کاشت Planting Density	2	11.71 ^{ns}	0.0012 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.0017 ^{ns}	0.005 ^{ns}	2.46 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.0007 ^{ns}	0.94 ^{ns}
اکوتیپ*تراکم کاشت Ecotype*Planting Density	2	27.32 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.018*	0.0026*	0.031*	2.46 ^{ns}	0.0012 ^{ns}	0.0037**	25.58 ^{ns}
تنش خشکی*تراکم کاشت Drought stress* Ecotype	4	55.11*	0.0009 ^{ns}	0.011 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	0.012 ^{ns}	2.81 ^{ns}	0.0015 ^{ns}	0.0006 ^{ns}	35.03*
تنش خشکی*اکوتیپ Drought Stress* Ecotype	2	21.78 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.0008 ^{ns}	0.009 ^{ns}	2.32 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0029*	30.45 ^{ns}
تنش خشکی*اکوتیپ*تراکم کاشت Drought Stress*Ecotype* Planting Density	4	157.44***	0.0034**	0.013 ^{ns}	0.002*	0.022*	2.34 ^{ns}	0.0017 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	20.42 ^{ns}
خطای فرعی Sub Error	30	19.07	0.0007	0.005	0.0007	0.008	1.24	0.0007	0.0005	11.71
ضریب تغییرات (%) C.V.(%)		21.05	14.71	12.58	14.69	12.23	25.01	12.90	8.46	5.68

***= معنی‌دار در سطح احتمال (P≤ ۰/۰۰۱)، **= معنی‌دار در سطح احتمال (P≤ ۰/۰۱)، * = معنی‌دار در سطح احتمال (P≤ ۰/۰۵)، ns= معنی‌دار نبودن

***= significant at P≤0.001, **= significant at P≤0.01, *=significant at P≤0.05, ns= non-significant.

جدول ۲- مقایسات میانگین محتوی قندهای محلول، کاروتنوئید و محتوی نسبی آب برگ در سطوح مختلف تنش خشکی

Table 2- Mean comparison of soluble sugar content, carotenoid and leaf RWC under different drought stress levels

تنش خشکی Drought stress	مقایسات میانگین Mean Comparison		
	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	محتوی نسبی آب (درصد)
	Soluble Sugars (mg.g ⁻¹ FW)	Carotenoid (mg.g ⁻¹ FW)	RWC (%)
ET _C 100%	19.18±1.9878c	0.20±0.0112a	62.45±1.0210a
ET _C 80%	21.07±0.9541b	0.21±0.0120a	59.35±1.1018b
ET _C 60%	21.96±1.1665a	0.19±0.0126b	58.71±1.1775b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، مطابق آزمون (LSD)، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

Means with as least one similar letter in each column, according to LSD test, are not significant at P≤0.05.

جدول ۳- مقایسات میانگین محتوی کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و محتوی نسبی آب برگ در دو اکوتیپ سیر

Table 3- Mean comparison of content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid and leaf RWC in two garlic ecotypes

اکوتیپ Ecotype	مقایسات میانگین Mean Comparison			
	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)
	Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ FW)	Total Chlorophyll (mg.g ⁻¹ FW)	Carotenoid (mg.g ⁻¹ FW)
طیس Tabas	0.646±0.0192a	0.227±0.0059a	0.872±0.0248a	0.234±0.0067a
طرود Toroud	0.451±0.0178b	0.146±0.0063b	0.597±0.0213b	0.165±0.0075b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، مطابق آزمون (LSD)، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

Means with as least one common letter in each column, according to LSD test, are not significant at P≤0.05.

جدول ۴- مقایسات میانگین محتوی کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و نسبت کاروتنوئید به کلروفیل تحت اثر متقابل اکوتیپ و تراکم کاشت

Table 4- Mean comparison of content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid to chlorophyll ratio under interaction effect of ecotype and plant density

اکوتیپ*تراکم کاشت Ecotype*Planting Density	مقایسات میانگین Mean Comparison			
	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	نسبت کاروتنوئید به کلروفیل
	Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ FW)	Total Chlorophyll (mg.g ⁻¹ FW)	Carotenoid/ Chlorophyll
b1c1	0.630±0.0171a	0.220±0.0062a	0.850±0.0219a	0.268±0.0046b
b1c2	0.673±0.0344a	0.238±0.0091a	0.912±0.0431a	0.260±0.0057b
b1c3	0.633±0.0444a	0.222±0.0139a	0.855±0.0578a	0.278±0.0068ab
b2c1	0.488±0.0359b	0.167±0.0101b	0.655±0.0458b	0.267±0.0089b
b2c2	0.410±0.0241c	0.142±0.0070bc	0.552±0.0301c	0.299±0.0031a
b2c3	0.455±0.0288bc	0.128±0.0117c	0.583±0.0265bc	0.262±0.0161b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، مطابق آزمون (LSD)، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

b1 و b2 به ترتیب: اکوتیپ طیس و اکوتیپ طرود و c1، c2 و c3 به ترتیب: تراکم‌های کاشت ۳۰، ۴۰ و ۵۰ بوته در مترمربع می‌باشند.

Means with as least one common letter in each column, according to LSD test, are not significant at P≤0.05.

b1, b2 (Respectively): Tabas and Toroud ecotypes. c1, c2, c3 (Respectively): planting densities of 30, 40 and 50 plants per m².

جدول ۵ - مقایسات میانگین محتوی قندهای محلول و محتوی نسبی آب تحت اثر متقابل تنش خشکی و تراکم کاشت

Table 5- Mean comparison of soluble sugar content and leaf RWC under interaction effect of drought stress and plant density

تنش خشکی*تراکم کاشت Drought Stress* Planting Density	مقایسات میانگین Mean Comparison	
	قندهای محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) Soluble Sugars (mg.g ⁻¹ FW)	محتوی نسبی آب (درصد) RWC (%)
a1c1	15.23±2.4003b	60.48±1.8129bc
a1c2	21.86±4.0991a	61.55±0.8795ab
a1c3	20.45±3.5852a	65.31±2.0020a
a2c1	23.80±0.4876a	61.40±1.9037ab
a2c2	20.31±2.3107ab	58.68±1.6125bc
a2c3	19.09±1.1482ab	57.97±2.2010bc
a3c1	23.07±1.9737a	59.38±2.8913bc
a3c2	22.51±2.9824a	59.71±1.8356bc
a3c3	20.31±0.5965ab	57.03±1.2482c

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، مطابق آزمون (LSD)، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند. a1, a2 و a3 به ترتیب ۱۰۰ درصد ETc، ۸۰ درصد ETc و ۶۰ درصد ETc هستند و c1, c2 و c3 به ترتیب: تراکم‌های کاشت ۳۰، ۴۰ و ۵۰ بوته در مترمربع می‌باشند.

Means with as least one similar letter in each column, according to LSD test, are not significant at $P \leq 0.05$. a1, a2, a3 are ETc 100%, ETc 80%, ETc 60%, respectively and c1, c2, c3 (Respectively): planting densities of 30, 40 and 50 plants per m².

تنظیم اسمری در تحمل گیاه در برابر تنش خشکی ایفا کردند. با اعمال تنش خشکی، محتوی نسبی آب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و اکوتیپ طیس به‌طور معنی‌داری دارای محتوی نسبی آب بالاتری نسبت به اکوتیپ طرود بود. در مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، نسبت کلروفیل *a/b*، کلروفیل کل و نسبت کاروتنوئید به کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. اما تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در مقدار کاروتنوئید گردید که این امر می‌تواند به‌علت اکسید شدن کاروتنوئیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن و صدمه دیدن ساختار ترکیبی آن باشد. اکوتیپ طیس به‌صورت معنی‌داری دارای مقادیر کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید بیش‌تری در مقایسه با اکوتیپ طرود بود. توجه به این نکته دارای اهمیت است که تفاوت معنی‌داری در مقدار قندهای محلول، پرولین، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کاروتنوئید و محتوی نسبی آب تحت اثر متقابل تنش خشکی و اکوتیپ مشاهده نشد، که این امر نشان‌دهنده این است که هر دو اکوتیپ در راستای ایجاد تحمل تحت شرایط تنش خشکی، با یکدیگر مشابه بودند و نسبت به هم برتری نداشتند. با توجه به این که تنش خشکی باعث کاهش مقادیر کاروتنوئید و محتوی نسبی آب برگ گردیده است، توصیه می‌شود از مواجهه این گیاه با تنش خشکی به‌خصوص تنش در سطوح شدید اجتناب گردد.

تفاوت در محتوی نسبی آب واریته‌های مختلف که تحت تنش خشکی قرار دارند، می‌تواند به‌علت تفاوت در توانایی جذب آب از خاک و یا توانایی روزه‌ها برای کاهش میزان تعرق و اتلاف آب از طریق تعرق باشد (Keyvan, 2010). بالاتر بودن محتوی نسبی آب در اکوتیپ طیس، می‌تواند با بالاتر بودن مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئید در این اکوتیپ، در مقایسه با اکوتیپ طرود، مرتبط باشد و توانایی بیش‌تر حفظ محتوی نسبی آب، می‌تواند برای حفظ بهتر و بیش‌تر رنگیزه‌های گیاهی مفید واقع گردد. Cha-um et al, 2010 گزارش کردند که کاهش محتوی نسبی آب برگ، همبستگی مثبتی با محتوی کلروفیل نشان داد. اثر متقابل تنش خشکی و تراکم کاشت بر محتوی نسبی آب برگ معنی‌دار بود و بیش‌ترین و کمترین مقدار محتوی نسبی آب برگ به ترتیب به تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی با تراکم کاشت ۳۰ بوته در مترمربع و تیمار ۶۰ درصد نیاز آبی با تراکم کاشت ۵۰ بوته در مترمربع تعلق داشت (جدول ۵).

نتیجه‌گیری

مقدار قندهای محلول در اثر تنش خشکی افزایش یافت در حالی که تغییر معنی‌داری در محتوی پرولین تحت شرایط تنش خشکی مشاهده نشد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که در این مطالعه، قندهای محلول نسبت به پرولین، نقش مهم‌تری را از لحاظ

References

1. Abedi Baba Arabi, S., Movahhedi Dehnavi, M., Yadavi, A. R., and Adhami, E. 2011. Effects of ZN and K foliar application on physiological traits and yield of spring safflower under drought stress. Electronic Journal

- of Crop Production 4(1):75-95. (In Persian with English summary).
2. Allen, R. G., Periera, L.S, Raes, D., and Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper 56. FAO, Rome.
 3. Arvin, M.J., and Kazemi-Pour, N. 2003. Effects of salinity and drought stresses on growth and chemical and biochemical compositions of 4 Onion (*Allium cepa*) cultivars. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science 5(4): 41-51. (In Persian).
 4. Baghalian, K., Ziaee, A., Naghavi, M. R., and Naghdibady, H. A. 2004 Evaluation of garlic ecotypes Iranian culture allicin content and botanical characteristics. Medicinal Plant Journal 4(13): 50-59. (In Persian).
 5. Bates, L. S., Waldran, R. P., and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Soil 39: 205-208.
 6. Ben Ahmed, C. H., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhris, M., and Ben Abdallah, F. 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany 67(2): 345-352.
 7. Bideshki, A., Arvin, M. J., and Maghsoudi, K. 2012. Effect of indole-3 butyric acid (IBA) foliar application on growth, bulb yield and allicin of garlic (*Allium sativum* L.) under water deficit stress in field. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 28(3): 567-577. (In Persian with English summary).
 8. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., and Igc, R. 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). Food Chemistry 111: 925-929.
 9. Buysee, J., and Mercks, R. 1993. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. Journal of Experimental Botany 44: 1627-1629.
 10. Cha-um, S., Yooyongwech, S., and Supaibulwatana, K. 2010. Water deficit stress in the productive stage of four indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Pakistan Journal of Botany 42(5): 3387-3398.
 11. Farshadfar, E., and Mohammadi, R. 2003. An evaluation of physiological indices of drought tolerance in Agropyron using multiple selection index. Iranian Journal of Agricultural Sciences 34(3): 635-646. (In Persian with English summary).
 12. Hanson, B. R., May, D., Voss, R., Cantwell, M., and Rice, R. 2003. Response of garlic to irrigation water. Agricultural Water Management Journal 58: 29-43.
 13. Hoekstra, F. A., and Buitink, J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends in Plant Science 8: 431-438.
 14. Jones, M. M., Osmond, C. B., and Turner, N. C. 1980. Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water stress. Australian Journal of Plant Physiology 7: 193-205.
 15. Kafi, M., Rezvan Beidokhti, Sh., and Sanjani, S. 2008. The effect of planting date and density on yield and morpho-physiological characteristics of Shallot (*Allium altissimum* Regel) in Mashhad. Journal of Horticultural Science 25(3): 310-319. (In Persian).
 16. Kafi, M., Borzouey, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A., and Nabati, J. 2009. Environmental stress physiology of plants. Jahad Daneshgahi Mashhad press. (In Persian).
 17. Kaiser, W. M. 1989. Effect of water deficit on photosynthetic capacity. Plant Physiology 71:142-149.
 18. Kameli A., and LoEsel, D. M. 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. New Phytologist 132: 57- 62.
 19. Keyvan, S. H. 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. Journal of Animal & Plant Sciences 8(3): 1051-1060.
 20. Khajeh-pour, M. R. 2008. Principles and basics of agronomy. Jahad Daneshgahi Publications Centers of Industrial Branch of Isfahan. (In Persian).
 21. Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.
 22. Lichtenthaler, H. K., and Buschmann C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry 431-438.
 23. Manivannan P., Jaleel C. A., Sankar B., Kishorekumar A., Somasundaram R., Lakshmanan G. M., and Panneerselvam, R. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids Surf B Biointerfaces 59(2): 141-149.
 24. Manoharan P. T., Shanmugaiah V., Balasubramanian N., Gomathinayagam S., Mahaveer P., Sharma M. P., and Muthuchelian, K. 2010. Influence of AM fungi on the growth and physiological status of *Erythrina variegata* Linn. Grown under different water stress conditions. European Journal of Soil Biology 46: 151-156.
 25. Mirshekari, B., and Mobasher, M. 2010. Effect of sowing date, planting density and onion size on seed yield of Azarshahr Red onion variety in Tabriz. Journal of Agricultural Sciences 12(2): 398-404. (In Persian with English summary).
 26. Mousavifar, B. E., Behdani M. A., Jami Al-Ahmadi, M., and Hosseini Bajd, M. S. 2011. Changes of chlorophyll index (SPAD), Relative water content, electrolyte leakage and seed yield in spring Safflower genotypes under irrigation termination. Iranian Journal of Field Crop Research 9(3): 525-534. (In Persian).

27. Naseri, Z., Abbassi, F., and Mahmoodzadeh, H. 2011. Effects of different water deficit levels and GA3 on the accumulation of proline and soluble and insoluble sugars in leaves of a new cultivar of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Science Researches* 6(2): 1-10. (In Persian with English summary).
28. Parameshwara, G., Paleg, I.G., Aspinall, D., and Jones, G. P. 1990. *Proceedings of International Congress of Plant Physiology*, New Delhi, India.
29. Sanchez, F.J., Manzanares, M., Andres, E. F., Temorio, J. I., Ayerbe, L., and De Andres, E. F. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop Research* 59: 225-235.
30. Siddique, M. R. B., Hamid, A., and Islam, M. S. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41: 35-39.
31. Veisipoor, A., Majidi, M. M., and Mirlohi, A. 2012. Traits relationship in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) under normal and water stress conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science* 42 (4): 745-756.
32. Xoconostle-Cazares, B., Ramirez-Ortega, F.A, Flores-Elenes, L., and Ruiz-Medrano, R. 2010. Drought tolerance in crop plants. *American Journal of Plant Physiology* 5(5): 241-256.
33. Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R. and Keen, C. L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 6929-6934.



The Effect of Drought Stress and Plant Density on Biochemical and Physiological Characteristics of Two Garlic (*Allium sativum* L.) Ecotypes

Sh. Akbari¹- M. Kafi^{2*} - Sh. Rezvan Beidokhti³

Received: 14-10-2015

Accepted: 26-12-2016

Introduction

Drought stress is the most important growth limiting factor for crop production. Sugar accumulation under drought stress strengthens and stabilizes cell membranes and maintains the water absorption and turgid property. Under stress conditions, proline will also maintain the turgor pressure and decreased the damages caused to plant membrane. Although proline concentrations may have undesirable effects on plant growth, because of deflecting photosynthetic resources to the processes that are not involved in plant growth. Chloroplasts and its pigments are also affected by drought stress. Density is one of the factors that has a significant impact on plant growth. Garlic is one of the edible plants which has generated considerable interest throughout human history because of its pharmaceutical properties. This study aimed to determine the effects of drought stress and plant density on some biochemical and physiological traits of two garlic ecotypes and determining the more resistant ecotype.

Materials and Methods

The study was carried out in 2011-2012 in a farm land at the south east of Semnan city. The experimental layout was a split-plot factorial with a randomized complete block design in three replications. The treatments were comprised of three factors: irrigation regimes (60%, 80% and 100% of estimated crop evapotranspiration (ET_c)) that were assigned as the main plot and the factorial combination of 3 levels of planting density (30, 40 and 50 plants. m²) and two ecotypes (*Tabas* and *Toroud*) made up the sub-plots. The water requirement was calculated based on FAO-56 crop water requirements instruction. FAO-56 Penman-Monteith equation was used to calculate evapotranspiration. To calculate the content of soluble sugar, proline and leaves pigment, the samples were collected in a random way from the youngest fully expanded leaves one month before the final harvest. Relative water content was estimated by measuring dry weight, fresh weight and turgor weight. All calculations were performed with the help of the SAS and MSTATC soft wares. The statistical significances of mean values were assessed by analysing of variance and LSD tests at P<0.05.

Results and Discussion

Drought stress increased the content of soluble sugars significantly. As an osmotic agent, the increased sugars, induced by water stress, was significantly correlated to osmotic adjustment and turgor maintenance. No significant differences were observed between different ecotypes under the interaction of ecotype-irrigation regime and this indicates that none of the ecotypes were superior in resisting drought stress by increasing soluble sugar. The drought stress, ecotype and plant density did not have significant effect on proline content. Regarding ecotype effects, a significant increase was observed in the content of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll in *Tabas* ecotype in comparison with *Toroud* ecotype. The carotenoids amount in the treatment of 100% ET_c was significantly higher than 60% ET_c treatment. Carotenoid content can be reduced due to oxidation by active oxygen and destruction of their structure. *Tabas* ecotype had significantly more carotenoid content in comparison with *Toroud* ecotype. Drought stress significantly reduced the RWC. The effect of water decrease in the plant can vary from a simple turgor pressure decreasing, to severe damages which can lead to protein crystallization. RWC was significantly higher in *Tabas* ecotype in comparison with *Toroud* ecotype. Difference in RWC of cultivars that are under drought stress may be due to the ability of more absorption of water from soil or ability of stomata to reduce the loss of water.

Conclusions

The soluble sugar content was increased by drought stress but proline content was not significantly changed under drought stress. Therefore, it can be tell that in this study, the soluble sugars had more important effect on osmoregulation and plant tolerance against drought stress rather than proline. Under drought stress, the RWC

1- Former MSc student in Agronomy, Azad Islamic University Damghan branch, Damghan

2- Professor of Agronomy, Ferdowsi University of Mashhad

3- Assistant professor, Azad Islamic University Damghan branch, Damghan

(* - Corresponding Author Email: m.kafi@um.ac.ir)

and carotenoid content were decreased significantly. *Tabas* ecotype had significantly more RWC, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll and carotenoid content in comparison with *Toroud* ecotype. A significant difference in the amount of soluble sugars, proline, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll, carotenoids and RWC was not observed in two ecotypes under different irrigation levels. This study showed that both ecotypes in order to withstand drought conditions were similar to each other and did not have advantage to other one.

Keywords: Chlorophyll, Evapotranspiration, Irrigation, Proline, Soluble sugars