گل و گیاهان زینتی (۱۳۹۹)، ۵ (۱): ۳۷- ۵۰
پژوهشی
DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.37

اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و میزان تولید کوئرستین در همیشه بهار در مراحل مختلف رشد

مهین قائمی[۱]، زهرا زارع*[۲]، سوده سمیعی پاقلعه[۱]

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه فرهنگیان، تهران

zahrazarebio@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۲۷ ، تاریخ بازنگری: ۹۹/۱۲/۵، تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۵

چکیده

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی با کاربردهای زینتی و دارویی از تیره کاسنی (Asteraceae) می‌باشد. از آن جا که شناسایی وضعیت رشد گیاهان در شرایط مختلف آبیاری، راهنمای کشت گیاهان دارای تحمل به خشکی است، هدف این پژوهش بررسی اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و میزان تولید کوئرستین در مراحل مختلف رشد گیاه همیشه بهار بود. این پژوهش در گرگان و در آزمایشی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش خشکی (بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید) در شرایط گلخانه و گلدان، در مراحل مختلف رشد گیاه شامل مراحل رویشی، پیش گلدهی، گلدهی و میوه‌دهی انجام شدند. پس از تعیین ظرفیت زراعی خاک، مقدار آب برای گلدان‌های شاهد محاسبه شد و سپس دو سوم مقدار آن برای تنش ملایم و یک سوم آن برای تنش شدید خشکی در نظر گرفته شد. پس از کاربرد تنش، در مراحل مختلف رشد، بوته‌ها از خاک خارج و ویژگی‌های ریخت‌شناسی آن ها شامل ارتفاع گیاه، طول ریشه، طول طوقه و ساقه، شمار برگ و گل، طول برگ و قطر گل، مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان تولید فلاونوئید غالب آن (کوئرستین) با روش کروماتوگرافی مایع سنجیده شد. نتیجه‌ها نشان داد که با کاهش میزان رطوبت خاک، ارتفاع بوته، شمار و سطح برگ و نیز شمار و قطر گل‌ها در دوره‌های رشد کاهش، اما طول ریشه در این دوره‌ها افزایش داشت. در تنش ملایم در مراحل گلدهی و میوه‌دهی تولید کوئرستین افزایش و در تنش شدید، کاهش نشان داد. بیشترین میزان کوئرستین (۵۹/۱۱ میلی گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۴۱/۰۵ میلی گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تنش خشکی شدید در مرحله گلدهی بود، که نشان می‌دهد گیاهان در رویارویی با تنش، ترکیب‌های ثانویه بیشتر و در صورت تنش شدید، بر اثر کاهش میزان رشد گیاه ترکیب‌های ثانویه کمتری تولید می‌کنند.

واژه های کلیدی: تنش خشکی، کوئرستین، ویژگی‌های ریخت‌شناسی، *Calendula officinalis* L.

مقدمه

همیشه بهار گیاهی از تیره کاسنی[۱] با نام علمی *Calendula officinalis* L. است. گیاهی با کاربردهای دارویی و زینتی است و هدف از کشت آن بیشتر تولید ماده‌های موثره در گل‌ها به ویژه گلبرگ‌هاست (Falahatgar, 2003). اثرهای ضد میکروبی، ضد انگلی، ضد التهاب، ضد تشنج، رقیق کننده خون، تقویت کننده اعصاب معده و کیسه صفرا از جمله ویژگی‌های دارویی این گیاه است که در طب سنتی استفاده می‌شود (Kumar Verma *et al.*, 2018). همچنین کاربرد پماد همیشه بهار همزمان با از بین بردن التهاب های پوستی، تولید گلیکوپروتئین‌ها و پروتئین‌ها به ویژه کلاژن را در محل مورد نظر افزایش می‌دهد (Salehi Sourmaghi *et al.*, 2014). مهم‌ترین ماده‌های مؤثره گیاه همیشه بهار فلاونوئید، ساپونین، فنولیک اسید و کاروتنوئید است. بخش عمده‌ای از فلاونوئیدهای این گیاه شامل انواع کوئرستین و ایزوکوئرستین می‌باشد (Kumar Verma *et al.*, 2018). کوئرستین یک فلاونول است که از گیاهان استخراج می‌شود و به عنوان مکمل تغذیه‌ای استفاده می‌شود. کوئرستین با پیشگیری از آزاد سازی هیستامین (ماده شیمیایی التهابی)، در برخی از یاخته‌های ایمنی بدن، در کاهش فشار خون تاثیر دارد و همچنین بر اساس برخی گزارش‌ها به کاهش رشد یاخته‌های سرطانی نیز کمک می‌کند (Jaimand *et al.*, 2013). همیشه بهار گیاهی یکساله با شاخه‌های فراوان و پوشیده از کرک به ارتفاع ۴۵ تا ۷۵ سانتی‌متر می‌باشد. برگ‌ها ساده، بیضی شکل، خمیده و پشت و روی برگ کرکدار است. ریشه گیاه مخروطی است و به طور مستقیم در خاک فرو می‌رود. گل آذین از نوع کلاپرک و در اندازه بزرگ حدود ۳ تا ۵ سانتی‌متر است. گل‌ها در وسط کلاپرک لوله‌ای هستند و در حاشیه چندین ردیف گل زبانه‌ای قرار دارد و گل‌ها به رنگ زرد مایل نارنجی است. میوه فندقه به رنگ قهوه‌ای و سطح آن ناصاف است. این گیاه بومی نواحی مدیترانه‌ای است و در ایران به ویژه در نواحی غربی و جنوب غربی به طور فراوان می‌روید و در نقاط دیگر پرورش داده می‌شود. افزایش این گیاه به صورت کاشت بذر در بهار انجام می‌شود (Samsam Shariat, 2005).

رشد و نمو گیاهان به عواملی چون نور، دما، اکسیژن، آب وغیره در حد مطلوب و در زمان مناسب بستگی دارد و در صورت کمبود و یا افزایش بیش از حد هر یک از عوامل نامبرده، اختلال های ریخت شناسی، تشریحی، فیزیولوژیک و رشد و نمو را در گیاهان به همراه دارد. بنابراین دور شدن از شرایط مطلوب در گیاهان، به عنوان تنش تعریف می‌شود که رشد و باروری گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chehregani Rad *et al.*, 2016). تنش خشکی به مفهوم کمبود آب در گیاه بوده و این وضعیت هنگامی ایجاد می‌شود که میزان تعرق از میزان جذب آب بیشتر باشد. تنش خشکی به طور معمول باعث برخی پاسخ‌های ریخت شناسی مانند: کاهش سطح برگ، کاهش رشد ساقه، افزایش رشد ریشه، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ رشد، انباشت ناگهانی آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیب‌های محلول و فعال سازی برخی آنزیم‌ها در گیاهان می‌شود (Chehregani Rad *et al.*, 2016). از آن جا که کشور ایران به عنوان منطقه خشک و نیمه خشک طبقه‌بندی می‌شود، تنش خشکی در دوره‌های رشد محصول های کشاورزی دوری ناپذیر می‌باشد. بنابراین تعیین گیاهان دارویی دارای تحمل به خشکی از نظر ارزش دارویی و اقتصادی دارای اهمیت می‌باشد. افزون بر این، ماده‌های موثره گیاهان دارویی زیر اثر تنش‌های تنظیم شده و هدفمند، افزایش یافته و یا ماده‌های موثره ویژه پیدا می‌کنند که در این صورت بازدهی اقتصادی آن ها افزایش

۱- Asteraceae

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.3.4]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.37]

خواهد یافت (Omidbaigi *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد که بررسی بیشتر درباره این موضوع، می‌تواند امکان جدیدی را برای بهره‌برداری مناسب از گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی که بیشتر نقاط کشور با آن رو به رو است فراهم سازد.

امروزه پژوهش‌های بسیاری در زمینه تنش خشکی روی گیاهان مختلف صورت گرفته و پژوهش‌هایی نیز در ارتباط با این تنش بر گیاه همیشه بهار انجام شده است. اما پژوهش‌های صورت گرفته بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و بررسی میزان ترکیب های موثره این گیاه در شرایط تنش خشکی، اندک است. پژوهشگران (Rahimi *et al.*, 2017)، تغییر عناصر غذایی زیست توده گیاه همیشه بهار را در تنش خشکی بررسی و گزارش کردند که بر اثر تنش خشکی میزان فسفر برگ کاهش معنی‌دار می‌یابد و منجر به کاهش زیست توده در گیاه می شود. همچنین، برخی اثرهای فیزیولوژیک مانند میزان آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز، محتوی پرولین، میزان سبزینه a و b و کاروتنوئیدهای گیاه همیشه بهار در شرایط تنش خشکی بررسی و تغییرهای معنی‌دار در میزان و محتوای ترکیب‌های نامبرده در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Ebrahimi *et al.*, 2017). در پژوهشی دیگر (Moghadasan *et al.*, 2016)، با بررسی نقش قارچ-ریشه در تحمل گیاه همیشه بهار به خشکی، نشان داده شد که در شرایط تنش خشکی ویژگی‌های رشدی مانند ارتفاع گیاه، شمار و سطح برگ، وزن تر و خشک ساقه و ریشه و نیز میزان سبزینه در ریشه‌های قارچ-ریشه ای کاهش می‌یابد.

با توجه به اهمیت گیاه همیشه بهار و همچنین خواص دارویی کوئرستین، هدف از این پژوهش بررسی اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مقدار کوئرستین تولید شده از گیاه همیشه بهار کاشته شده در گرگان در مراحل مختلف رشد است.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۶ در گلخانه‌ای در شرایط آب و هوایی گرگان با مشخصات جغرافیایی (عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۵ دقیقه شرقی، طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۳۰ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۰۰ متر از سطح دریا) صورت گرفت. آزمایش در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل بدون تنش خشکی (تیمار شاهد)، تنش ملایم و تنش شدید خشکی در مراحل مختلف رشد گیاه همیشه بهار در نظر گرفته شد (Aslani *et al.*, 2011).

تهیه بذر و کاشت

مقدار ۵۰۰ گرم بذر همیشه بهار از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد و در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان در سه کرت برای تهیه نشاء به صورت سطحی کشت و آبیاری شد. پس از رویش بذرها، در مرحله ۳ تا ۵ برگی انتقال نشاء به گلدان صورت گرفت. گلدان‌ها با آمیخته ای از خاک زراعی، ماسه، کود دامی و خاکبرگ به نسبت (۱:۱:۲:۳) پر شدند. وجین دستی نوبت اول و دوم، تنک و سله شکنی به‌موقع صورت گرفت. تنژگی در دمای ۱۵ درجه سلسیوس و سایر مراحل در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس در گلخانه صورت گرفت (Aslani *et al.*, 2011).

کاربرد تنش خشکی

نخست، ظرفیت زراعی (FC) خاک گلدان‌ها تعیین و مقدار آب برای گلدان‌های شاهد محاسبه و در نظر گرفته شد. سپس دو سوم مقدار آن برای تنش ملایم و یک سوم آن برای تنش خشکی شدید در نظر گرفته‌شد و با توجه به نوع تیمار، گلدان‌ها با مقدار تعیین شده آبیاری شدند (Lebaschy & Sharifi Ashoorabadi, 2004).

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.3.4]
[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.37]

اندازه گیری شاخص‌ها

پس از کاربرد تنش، در مراحل مختلف رشد (رویشی، پیش‌گلدهی، گلدهی و میوه‌دهی) بوته‌ها از خاک خارج و ویژگی‌های ریخت‌شناسی آن ها شامل ارتفاع گیاه، طول ریشه، طول طوقه و طول ساقه، شمار و طول برگ‌ها، و شمار و قطرگل‌ها، مورد واکاوی قرار گرفت. همچنین میزان تولید فلاونوئید غالب آن (کوئرستین) با روش کروماتوگرافی مایع سنجیده شد.

اندازه گیری ویژگی‌های ریخت شناسی

بوته را از خاک خارج کرده و ویژگی‌های ریخت‌شناسی چون ارتفاع گیاه، طول برگ و طول ریشه با استفاده از خط‌کش مدرج و اندازه طوقه و ساقه با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. همچنین در مرحله گلدهی، شمار و قطرگل‌ها شمارش شد (Jazi Zadeh & Mortazaeinezhad, 2017).

استخراج و اندازه گیری کوئرستین

برای تعیین نوع ترکیب‌های فلاونوئیدی موجود در عصاره، روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به کار رفت. بدین منظور، نمونه های گل از تیمارهای مختلف گرفته شدند و پس از خشک و پودر شدن و آمیخته شدن با متانول خالص، با لرزا به مدت ۱۲ ساعت یکنواخت شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. بخش رویی محلول با سرنگی به ظرف ویژه HPLC منتقل و به دستگاه تزریق شد (مدل دستگاه مرک – هیتاچی ال ۷۱۰۰، دتکتور: دیود اری هیتاچی ال ۲۴۵۰، آون ستون: هیتاچی ال ۲۳۰۰، و نوع ستون: آر پی ۱۸، با ابعاد ۴/۶در ۲۵۰ میلی‌متر و اندازه ذره ۵ میکرومتر). فاز متحرک شامل یک میلی‌لیتر اسیداستیک، ۸۹ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰ میلی‌لیتر استونیتریل با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و دمای ۴۰ درجه سلسیوس بود. با مقایسه زمان تاخیر و سطح زیر منحنی نمونه با نمونه‌های استاندارد، میزان کوئرستین تعیین و بر اساس میلی‌گرم برگرم نمونه بیان شد (Jaimand *et al.*, 2011). برای رسم منحنی استاندارد، از استانداردهای کوئرستین غلظت های (۱۵۰،۳۰۰،۴۵۰،۷۵۰،۱۰۵۰،۱۵۰۰و۲۱۰۰) میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد. سپس با تزریق ۲۰ میکروگرم از هر نمونه سطح زیر نمونه‌ها و سپس میزان ترکیب کوئرستین محاسبه شد(Jaimand *et al.*, 2011).

تزریق نمونه گیاهی

نخست، غلظتی از استانداردها تهیه شد و سپس نمونه‌های صاف شده توسط سرنگی به دستگاه تزریق شدند، با مقایسه زمان‌های بازداری نمونه و استاندارد، پیک مورد نظر شناسایی شد. میزان کوئرستین بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن خشک نمونه بیان می‌شود (Jaimand *et al.*, 2013).

واکاوی آماری داده‌ها

آزمایش‌ها با سه تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام شد. واکاوی آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

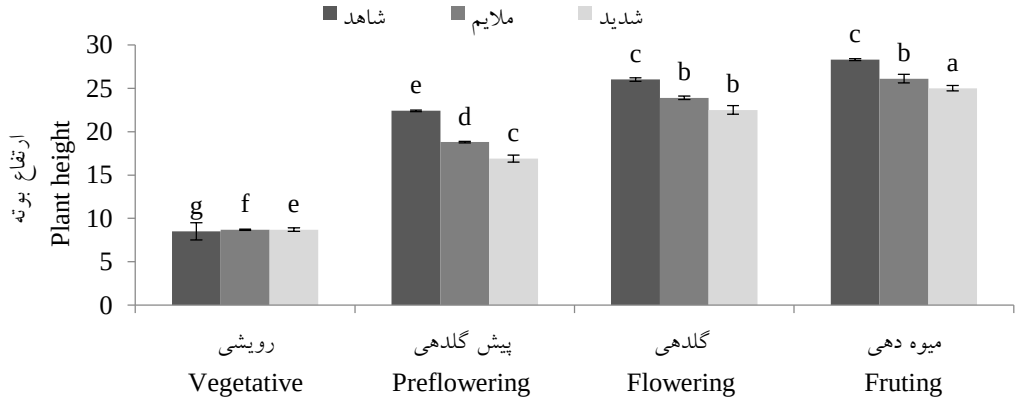
نتایج و بحث

بخش نخست: اثر تنش بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی در مراحل مختلف رشد

بر اساس نتیجه‌های قابل مشاهده در شکل‌ها، سطح‌های مختلف تنش خشکی در مراحل مختلف رشد بر ویژگی‌های ارتفاع بوته، طول ریشه، قطرساقه، قطر طوقه، و تعداد و طول برگ اثر معنی‌داری در سطح ۵٪ نشان داد.

اثر سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر ارتفاع بوته

بر اساس شکل ۱، نتیجه‌ها نشان داد که تنش خشکی، سبب کاهش ارتفاع گیاه در همه مراحل رشد شده است. بیشترین میزان ارتفاع بوته (۲۸/۳۰سانتی‌متر) مربوط به برهمکنش تیمار شاهد در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۸/۵ سانتی‌متر) هم مربوط به برهمکنش تیمار شاهد در مرحله رویشی مشاهده شد.



شکل ۱- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر ارتفاع بوته. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 1 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on plant height. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.

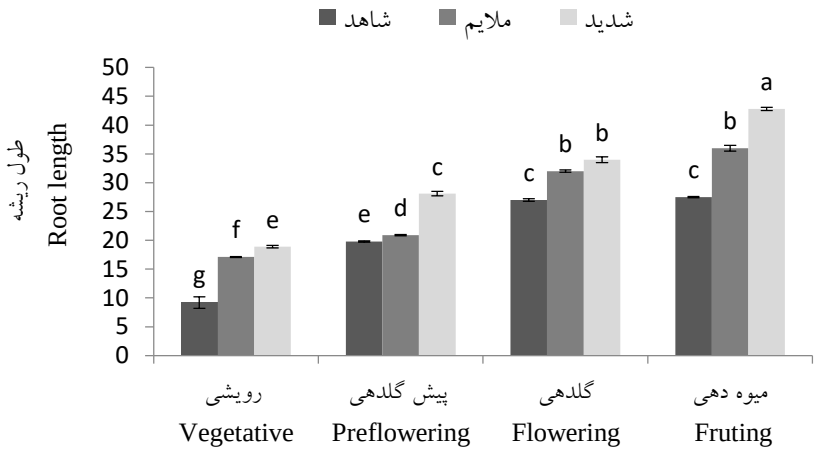
اثر سطح های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر طول ریشه

بر اساس شکل ۲، تنش خشکی سبب افزایش طول ریشه در همه مراحل رشد شده است. بیشترین میزان طول ریشه (۴۲/۸۹ سانتی‌متر) مربوط به تیمار تنش شدید در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۹/۲ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در مرحله رویشی مشاهده شد.

اثر سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر طوقه و ساقه

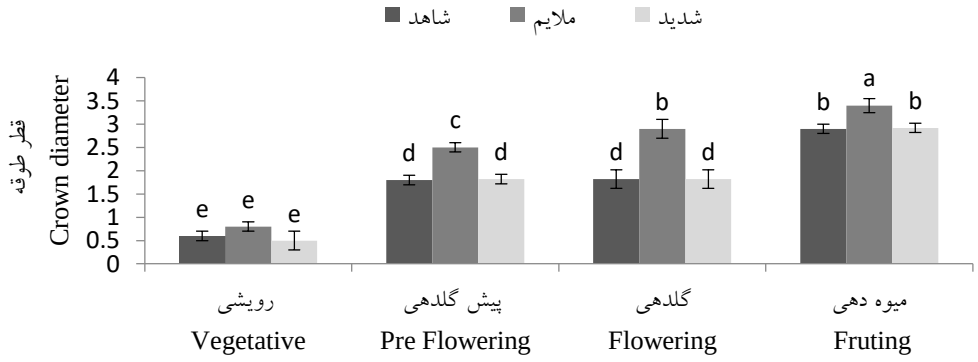
همان گونه که در شکل ۳ دیده می‌شود، بیشترین میزان قطر طوقه (۳/۴ سانتی‌متر) در تنش خشکی ملایم و در مرحله میوه‌دهی مشاهده شد و کمترین میزان آن (۰/۵ سانتی‌متر) مربوط به تیمار تنش شدید خشکی و در مرحله رویشی بود که تفاوت معنی داری با تیمارهای شاهد و تنش ملایم ندارد.

همچنین همان گونه که در شکل ۴ دیده می‌شود، نتیجه‌ها نشان داد که بیشترین میزان قطر ساقه (۱۴ میلی‌متر) مربوط به تنش خشکی ملایم در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۷/۹ میلی‌متر) مربوط به تنش خشکی شدید در مرحله رویشی بود.



شکل ۲- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر طول ریشه. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 2 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on root length. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.

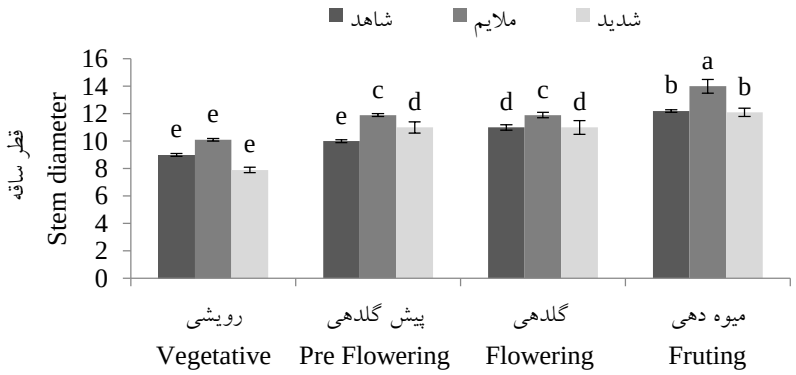


شکل ۳- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر طوقه. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

Figure 3 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on crown diameter. The same letters indicate no significant difference at 5% level.

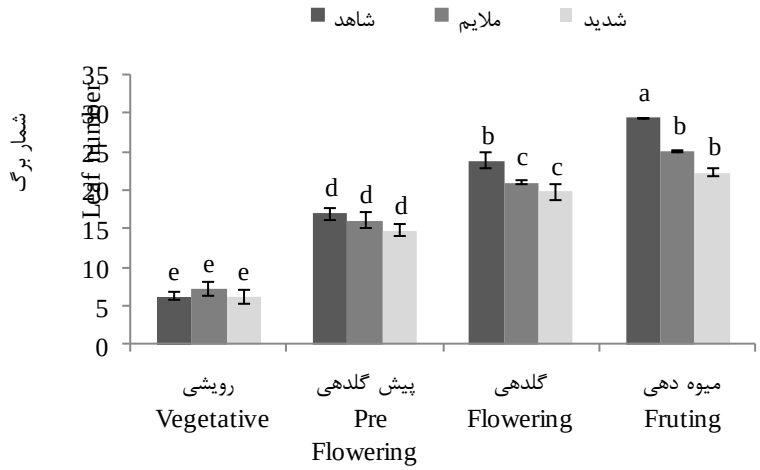
اثر سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر شمار و طول برگ

با توجه به شکل ۵، بیشترین میزان شمار برگ (۲۹/۳ عدد) مربوط به تیمار شاهد در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۶/۲ عدد) مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله رویشی مشاهده شد. همچنین بر اساس شکل ۶، بیشترین میزان طول برگ (۱۷/۵۰ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۳/۴۵ سانتی‌متر) مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله رویشی بود.



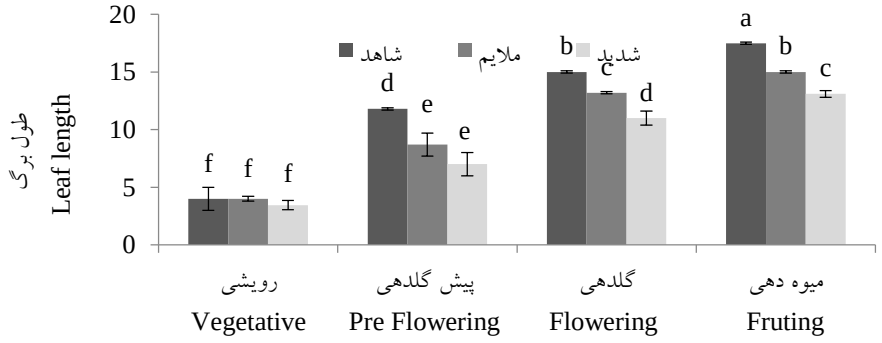
شکل ۴- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر ساقه. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 4 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on stem diameter. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.



شکل ۵- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر شمار برگ. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 5 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on leaf number. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.



شکل ۶- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر طول برگ. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 6 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on leaf length. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.

به طور کلی، نتیجه‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که تنش شدید خشکی در تمام مراحل رشد گیاه، برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی از جمله طول گیاه، طول برگ، شمار برگ و شمار گل را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. این نتیجه‌ها با نتیجه‌های برخی پژوهش‌های صورت گرفته که نشان داده است تنش خشکی می‌تواند ویژگی های زیست شیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان را تغییر دهد و رشد و نمو گیاهان را محدود کند و سبب بروز برخی پاسخ‌های ریخت شناختی شود همسو می‌باشد (Omidbeigi, 2000). همچنین با گزارش‌های دیگر از نظر این که که کیفیت و کمیت رشد گیاهان به تقسیم، رشد و تمایز یاخته‌ای وابسته است (Jaleel *et al.*, 2009) و این عوامل از تنش خشکی اثر پذیرند (Kusaka *et al.*, 2005; Sankar *et al.*, 2007)، همسو است. براساس گزارش‌های دیگر (Farooq *et al.*, 2009; Reddy *et al.*, 2004; Jaleel *et al.*, 2009)، تنش خشکی رشد گیاه را با اثر بر فرآیندهای زیست شیمیایی و فیزیولوژیک مانند نورساخت، تنفس، جذب و دریافت یون ها و ماده‌های آلی، سوخت و ساز ماده‌های غذایی و غیره کاهش می‌دهد. نتیجه‌های این پژوهش با دیگر گزارش‌ها (Zhang *et al.*, 2004; Specht *et al.*, 2001) در گیاه سویا[۱] مبنی بر کاهش طول ساقه در شرایط کم-آبی همسو است. همچنین با گزارش دیگری (Petropoulos *et al.*, 2008) در ارتباط با کاهش معنی‌دار طول ساقه در گیاه جعفری[۲] در تنش خشکی، همسو است. به احتمال، کاهش سطح برگ در تنش به کار رفته، به دلیل کاهش محتوای نسبی آب و سپس کوچک شدن اندازه یاخته‌ها، کاهش تقسیم یاخته‌های مریستمی و در نتیجه کند شدن رشد برگ، تسریع پیری و در ادامه آن ریزش برگ‌ها می‌باشد (Osuagwu, *et al.*, 2011).

در پژوهشی (Khurana & Singh, 2000) نیز دیده شد که کاهش سطح و شمار برگ در اثر افزایش تنش خشکی در جهت پاسخ گیاه به خشکی، کاهش هدرروی آب و تعرق و در ادامه آن افزایش تحمل گیاه است. نتیجه‌های این پژوهش از نظر اثر تنش

۱- Soybean
۲- Parsley

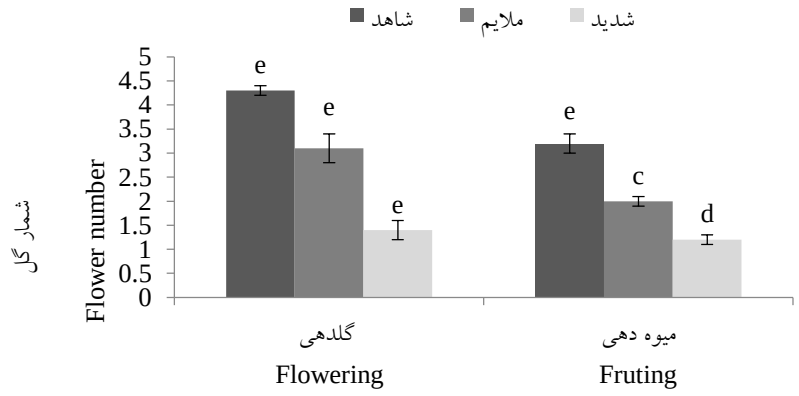
خشکی بر کاهش سطح و شمار برگ، با پژوهشی دیگر (Moradi Marjane & Goldani, 2011) در رفع اثرهای تنش خشکی با استفاده از سالیسیلیک اسید درگیاه همیشه بهار، همسو است. این پژوهشگران گزارش کردند که یکی از فرایندهایی که در شرایط کم آبی در گیاه همیشه بهار رخ می‌دهد، تغییر سطح برگ است. بنابراین کاهش سطح برگ در نتیجه کاهش تقسیم و طویل شدن یاخته، نوعی سازگاری است که گیاه در رویارویی با شرایط کم آبی برگزیده و در نتیجه در اثر کمبود آب، سطح برگ‌های گیاه همیشه بهار کاهش می‌یابد. همچنین با کاهش آبیاری تعداد برگ نیز کاهش می‌یابد، به طوری که در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی تعداد برگ نسبت به شاهد ، ۴۴٪ کاهش نشان داد. همچنین نتیجه‌های این بخش از پژوهش با پژوهشی دیگر (Pourghasemian and Moradi, 2018) در واکاوی شاخص‌های رشدی گیاه همیشه بهار کاشته شده در استان کرمان در شرایط تنش خشکی، همسو است.

بخش دوم: تاثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گل و تولید کوئرستین در مراحل مختلف رشد

بر اساس نتیجه‌های قابل مشاهده در شکل‌ها سطح‌های مختلف تنش خشکی در مراحل مختلف رشد بر شمار گل، قطر گل و میزان کوئرستین اثر معنی‌داری در سطح ۵٪ نشان داد.

اثر سطح‌های مختلف خشکی و مراحل رشدی بر شمار و قطرگل

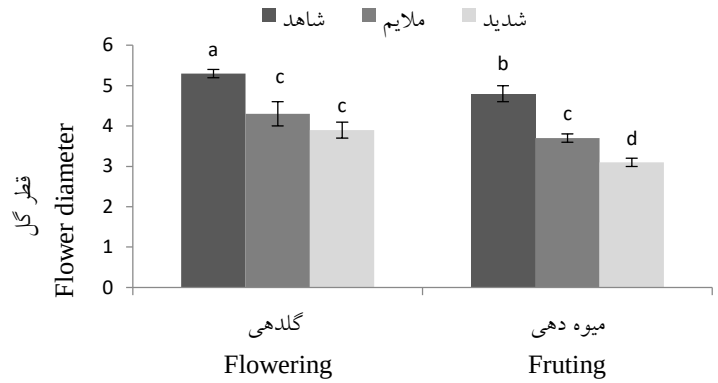
بر اساس شکل ۷، بیشترین میانگین شمارگل در بوته (۴/۳ عدد) مربوط به تیمار شاهد در مرحله گلدهی و کمترین میزان آن (۱/۲ عدد) مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله میوه‌دهی دیده شد.



شکل ۷- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر شمار گل. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 7 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on flower number. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.

همچنین، همان گونه که شکل ۸ نشان می‌دهد، بیشترین میزان قطر گل در بوته (۵/۳ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در مرحله گلدهی و کمترین میزان آن (۳/۱ سانتی متر) هم مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله میوه‌دهی بود.

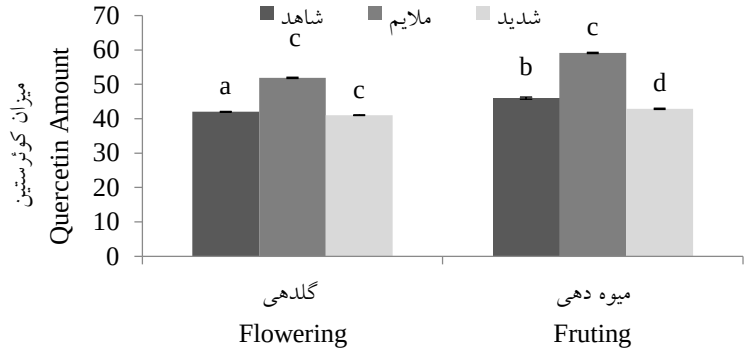


شکل ۸- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر قطر گل. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 8 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on flower diameter. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.

اثر سطح های مختلف خشکی و مراحل رشدی بر میزان کوئرستین

بر اساس شکل ۹، بیشترین میزان کوئرستین (۵۹/۱۱ میلی گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تنش خشکی ملایم و در مرحله میوه‌دهی و کمترین میزان آن (۴۱/۰۵ میلی گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار تنش خشکی شدید در مرحله گلدهی بود.



شکل ۹- مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش سطح‌های مختلف تنش خشکی و مراحل رشد بر میزان کوئرستین. حرف‌های یکسان بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. خط های بالای ستون ها بیانگر خطای استاندارد است.

Figure 9 – Mean comparison of interactions between different levels of drought stress and growth stages on quercetin amount. The same letters indicate no significant difference at 5% level. Lines in top of the columns represent standard errors.

متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی در شرایط تنش بیشتر تولید می‌شوند و بازده اقتصادی گیاه را بالا می برند و برای سازگاری گیاه نسبت به شرایط نامطلوب و تنش‌ها تولید می‌شوند و یک نوع جریان دفاعی به شمار می‌آیند (Omidbeigi, 2000). بر همین اساس، گیاهان معطر سرشار از اسانس در نواحی خشک نسبت به نواحی مرطوب خیلی فراوان‌تر هستند. مقدار اسانس در گیاهانی مانند افسنطین[۱] ، بابونه[۲] ، اسطوخودوس[۳] و اکالیپتوس[۴] در شرایط خشکی افزایش می‌یابد، که احتمال می‌رود که اسانس‌ها در ساز و کار مقاومت به خشکی از روش کاهش تعرق مؤثر باشند. ترکیب اسانس و کیفیت آن نیز در اثر خشکی تغییر می‌کند. میزان موسیلاژ نیز در شرایط خشک به مقدار بسیار زیادی افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که توانایی بالای نگهداری آب توسط این مواد، نقش عمده‌ای در سازگاری گیاه با شرایط خشک دارد (Salehi Arjmand, 2005). نتیجه‌های این پژوهش که نشان داد در شرایط تنش خشکی ملایم میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه از جمله میزان کوئرستین افزایش می یابد که با گزارش دیگری (Lebaschy & Sharifi Ashoorabadi, 2004) مبنی بر این که گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی برای رویارویی با تنش برخی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند و میزان آنها در گیاهان به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد؛ همسو بود. همچنین نتیجه‌ها از نظر افزایش میزان کوئرستین در عصاره گل‌ها در شرایط تنش خشکی ملایم، با پژوهش دیگری (Alijani *et al.*, 2015) مبنی بر افزایش میزان کوئرسین در عصاره گل همیشه بهار در اثر تنش زیوای آلودگی به نماتد، همسویی دارد و نشان از تولید این متابولیت در شرایط تنش‌های زیوا و نازیوا دارد.

نتیجه گیری

نتیجه‌های این پژوهش نشان داد که در گیاه همیشه بهار در بیشتر دوره های رشد (پیش گلدهی، گلدهی و میوه دهی) با افزایش میزان تنش خشکی، طول گیاه کاهش می‌یابد. همچنین در تمام دوره‌های رشد گیاه، طول ریشه با ایجاد تنش و افزایش شدت آن، افزایش می‌یابد. قطر طوقه و ساقه در تمامی مراحل رشد در تنش ملایم بیشترین مقدار را نشان داد. شمار و طول برگ‌ها نیز در بیشتر دوره های رشد گیاه با افزایش میزان تنش خشکی کاهش معنی‌داری نشان داد. تنش کم-آبی در مراحل گلدهی و میوه‌دهی، سبب کاهش معنی دار شمار و قطر گل‌ها نسبت به تیمار شاهد شد. در شرایط تنش ملایم در دو مرحله گلدهی و میوه‌دهی، تولید کوئرستین افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد اما در تنش شدید در هر دو مرحله، اندکی کاهش در میزان تولید کوئرستین نسبت به شاهد و تنش ملایم دیده شد.

منابع

Alijani, Z., Olia, M., Sharifnabi, B., Jaimand, K. (2015). Effect of different inoculum densities of root-knot nematode, Meloidogyne javanica on progress of disease and production of secondary compounds in pot marigold, *Calendula officinalis*. *Iranian journal of Plant pathology*, *51*(2), 215-225 (In Persian).

Aslani, Z., Hassani, A., Sadaghiyani, M.R., Sefidkon, F., Barin, M. (2011). Effect of two fungi species of arbuscular mycorrhizal (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) on growth, chlorophyll contents and P

۱-Artemisia ۲- Matricaria ۳- Lavandula ۴- Eucalyptus

concentration in Basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *27*(3), 471-486. (In Persian).

Chehregani Rad, A., Khorzaman, N., LariYazdi, H., Shirkhani, Z. (2016). Changes in growth characteristics and physiological indices in Zn-stressed *Phaseolus vulgaris* plants on hydroponic medium. *Developmental Biology*, *8*(2), 31-39 (In Persian).

Ebrahimi, M., Zamani, Gh., Alizadeh, Z. (2017). A study on the effects of water deficit on physiological and yield-related traits of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *33*(3), 492-508 (In Persian).

Falahatgar, A. (2003). *Plant medicine*. Daftar Tablighat Press. 379p. (In Persian).

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.

Jaimand, K., Ahrabi Asli, H., Behrad, Z. (2013). Extraction and determination of quercetin and kampferol in *Foeniculum vulgare* Mill. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *29*(3), 681-691 (In Persian).

Jaimand, K., Ahrabi Asli, H., Monfared, K. (2011). Extraction and determination of quercetin in *Achillea millefolium* L., *Achillea bieberstinuii* Afan. and *Achillea tenuifolia* Lam. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *27*(3), 529-539 (In Persian).

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., AL-Juburi, H.J., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal Agriculture and Biology*, *11*, 100–105.

Jazi Zadeh, A., Mortazaeinezhad, F. (2017). Effects of water stress on morphological and physiological indices of *Cichorium intybus* L. for introduction in urban landscapes. *Journal of Plant Process and Function*, *6*(21), 279-290 (In Persian).

Khurana, E., Singh, J.S. (2000). Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. *Annals of Botany*, *86*, 1185-1192.

Kumar Verma, P., Raina, R., Agarwal, S., Kour, H. (2018). Phytochemical ingredients and pharmacological potential of *Calendula officinalis* Linn. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, DOI: 10.18502/pbr. v4i2.214.

Kusaka, M., Ohta, M., Fujimura, T. (2005). Contribution of inorganic components to osmotic adjustment and leaf folding for drought tolerance in pearl millet. *Physiologia Plantarum*, *125*, 474–489.

Lebaschy, M.H., Sharifi Ashoorabadi, E. (2004). Growth indices of some medicinal plants under different water stresses. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *20*(3), 249-26 (In Persian).

Moradi Marjane, E., Goldani, M. (2011). Evaluation of different salicylic acid levels on some growth characteristics of *Calendula officinalis* L. under limited irrigation. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *4*(11), 23-45 (In Persian).

Moghadasan, Sh., Safipour Afshar, A., Saeid Nematpour, F. (2016). The role of mycorrhiza in drought tolerance of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, *9*(4), 521-535.

Omidbaigi, R. (2000). *Medicinal Plants Production and Processing Approaches*. Tarahan Nashr Press. 424p. (In Persian).

Omidbaigi, R., Sadrai Menjili, K., Sefidkon, F. (2006). Effect of sowing dates in the productivity of fennel (*Foeniculum vulgare*) CV. Soroksari. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *21*(4), 465-479 (In Persian).

Osuagwu, G.G.E., Teixeira da Silva, J.A., Edeoga, H.O. (2011). Effect of water stress (drought) on the antimicrobial activity of the leaves of *Ocimum gratissimum* L. and *Gongronema latifolium* Benth. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, *5* (1), 38-42.

Petropoulos, S.A., Dimitra Daferera, Polissiou, M.G., Passam, H.C. (2008). The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Scientia Horticulturae*, *115*, 393- 397.

Pourghasemian, N., Moradi, R. (2018). Assessing effect of drought stress and ascorbic acid application on some growth and bio-chemical parameters of marigold (*Calendula officinalis* L). *Journal of Plant Process and Function*, *6*(19), 77-88 (In Persian).

Rahimi, S., Pirzad, A., Jalilian, J., Tajbakhsh, M. (2017). Nutrients and biomass variations in pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under water deficit stress and phosphorus (chemical and biological) sources. *Journal of Plant Process and Function*, *6*(21),185-196 (In Persian).

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiol*ogy, *161*, 1189–1202.

Salehi Arjmand, H. (2005). *Effect of Drought Stress on Growth, Yield and Secondary Metabolites of Medicinal Plants*. Institute of Forests and Rangelands Research Press. 307p. (In Persian).

Salehi Sourmaghi, M., Mansouri, M. (2014). *Medicinal Herbs and Herbal Remedies*. Donyaye Taghzieh Press. 434p. (In Persian).

Samsam Shariat, H. (2005). *Selection of Medicinal Plants.* Mani Press. 1034p. (In Persian).

Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2007). Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.06.016.

Specht, J.E., Chase, K., Macrander, M., Graef, G.L., Chung, J., Markwell, J.P., Germann, M., Orf, J.H., Lark, K.G. (2001). Soybean response to water: A QTL analysis of drought tolerance. *Crop Science*, DOI: 10.2135/cropsci2001.412493x.

Zhang, M., Duan, L., Zhai, Z., Li, J., Tian, X., Wang, B., He, Z., Li, Z. (2004). Effects of plant growth regulators on water deficit-induced yield loss in soybean. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia. P. 132.

[DOR: 20.1001.1.26765993.1399.5.1.3.4]

[DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.37]

Flower and Ornamental Plants (2020), 5(1): 37-50
Research article
DOI: 10.52547/flowerjournal.5.1.37

Effects of drought stress on some morphological characteristics and quercetin production levels of pot marigold at different stages of growth

M. Ghaemi[1], * Z. Zare[2*], S. Samiee Paghaleh[1]

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan
2. Department of Biology, Farhangian University, Tehran
zahrazarebio@gmail.com

Received: 2020/04/15, Revised: 2021/02/23, Accepted: 2021/02/23

Abstract

Calendula officinalis L. belongs to Asteraceae and is an ornamental and medicinal plant. Since diagnosis of medicinal plants growth under different irrigation conditions and drought stress can be a guide for growing plants in dry and low water conditions, the aim of this study was investigating of the effects of drought stress on morphological characteristics and quercetin amount, in different stages of plant growth of *C. officinalis* L. This research was conducted in Gorgan in a completely randomized factorial design, each treatment with 3 replications. The experimental treatments included three levels of stress (no stress, mild stress and severe stress) in pots under greenhouse conditions, at vegetative, pre-flowering, flowering, and fruiting stages. After determining the soil field capacity in the pots, the water content was calculated for control pots, and then its content was set at 2/3 for mild and 1/3 for drought stress. The pots were irrigated with the specified amount. After the treatments, plants were pulled from soil and their morphological traits including plant height, root length, stem length, leaf length, number of flowers, and flower diameter were measured. Moreover, their predominant flavonoid production (quercetin) was measured by liquid chromatography. Statistical analysis was performed SPSS software and means were compared using Duncan's multiple range test at 5% level. The results showed decreased plant height, leaf number and area and flower number and diameter, and increased root length by decreasing of soil moisture content at all stages of growth. The amount of quercetin increased in mild stress condition and decreased in severe stress condition at flowering and fruiting stages. The highest level of quercetin (59.11 mg g^{-1} dry weight) was belonged to mild drought stress at fruiting stage and the lowest level (41.05 mg g^{-1} dry weight) was belonged to severe drought stress at flowering stage. It can be concluded that plants produce more secondary metabolites in response to stress, and in severe stress, they produce fewer secondary metabolites due to lower plant growth rate.

Keywords: *Calendula officinalis* L., Drought stress, Morphological characteristics, Quercetin.