نشریه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد چهاردهم، شماره ۲(۵۴)، تابستان ۱۳۹۹، صفحه ۲۳۶-۲۱۷

**مقاله پژوهشی** DOI: 10.30495/jcep.2020.676139

# اثر کود نیتروژنه بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانت گل همیشه بهار در رژیم‌های آبیاری

**افسانه پیرمانی[۱]، تورج میر محمودی[۲*]، سوران شرفی[۲] و سامان یزدان ستا[۲]**

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۳۰ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۷**

## چکیده

بررسی اثرات سطوح کود نیتروژنه بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانت گل همیشه بهار در دورهای مختلف آبیاری طی آزمایشی به‌صورت اسپیلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در دوسال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در ایستگاه کشاورزی ساعتلوی ارومیه انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دور آبیاری در چهار سطح (آبیاری بعد از ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز) و مصرف کود نیتروژنه در چهار سطح (صفر: شاهد، ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر دور آبیاری بر کلیه صفات موردبررسی معنی‌دار بود. بین سطوح کود نیتروژنه از لحاظ اثر بر کلیه صفات به‌غیر از محتوی پرولین اختلاف معنی‌دار دیده شد. اثر متقابل دو تیمار نیز بر شاخص سطح برگ، ضریب هدایت روزنه‌ای، محتوی کلروفیل b، درصد و عملکرد اسانس معنی‌دار بود. در این تحقیق، با افزایش تعداد روزهای دور آبیاری از ۵ به ۲۰ روز محتوی آب نسبی برگ، کلروفیلa، کارتنوئید و عملکرد خشک گل به‌ترتیب ۳۶/۶۴، ۳۵/۲۷، ۲۴/۳۱ و ۴۵/۷۷ درصد کاهش و محتوی پرولین، فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدهید به ترتیب ۲۴/۷۲، ۳۳/۰۴، ۳۵/۵۱ و ۲۰/۸۶ درصد افزایش نشان دادند. در بین سطوح کود نیتروژنه نیز استفاده از۱۶۰ کیلوگرم در هکتار در مقایسه با شاهد، محتوی آب نسبی برگ، کلروفیلa، کارتنوئید و عملکرد خشک گل را به‌ترتیب ۱۶/۱۸، ۴/۲۴ و ۲۳/۶۸ درصد افزایش و فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و مالون‌دی آلدهید را به‌ترتیب ۱۸/۱۰، ۲۱/۲۳، ۲۹/۶۹ و ۲۸/۲۶درصد کاهش داد. بالاترین شاخص سطح برگ، ضریب هدایت روزنه‌ای، کلروفیلb به کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و دور آبیاری بعد از ۵ روز و بالاترین درصد اسانس گل و عملکرد اسانس نیز به کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و دور آبیاری بعد از ۱۰ روز اختصاص یافت. جهت دستیابی به حداکثر خصوصیات کیفی مناسب در گل همیشه بهار دور آبیاری ۱۰ روزه و کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه در شرایط اقلیمی مشابه این آزمایش می‌تواند مد نظر قرار گیرد.

**واژگان کلیدی**: آنتی اکسیدانت، شاخص سطح برگ، کلروفیل، کم‌آبی.

**۱- دانشجوی دکتری زراعت،واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران.**

**۲- استادیار گروه زراعت، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران.**

**نگارنده‌ی مسئول)** toraj73@yahoo.com

## مقدمه

گیاه همیشه‌بهار از تیره‌ی کاسنی (Asteracea) با نام علمی (*Calendula officinalis* L.) گیاهی بوته‌ای، معطر، دارویی و زینتی با گل‌های زرد و نارنجی و بومی مناطق مدیترانه‌ای است (Anderson, 2013). اسامی دیگر آن، آذرگون، زبیده و قرمهان است (Samsam Shariat *et a*l., 2005). گزارش شده است که این‌گونه حاوی انواع مختلفی از مواد فیتوشیمیایی از جمله کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ترکیبات فنلی، استروئید، ترپنوئید، توکوفرول، کاروتنوئیدها و کوئین‌ها است (Shahrbabaki *et al*., 2013) که اثرات سودمندی بر سلامتی انسان دارند (Vodnar, 2012). اثرات ضدویروسی، ضدتوموری، آنتی‌موتاژنی و آنتی‌اکسیدانتی گل همیشه بهار مشخص شده است، اما در حال حاضر یکی از مهم‌ترین استفاده‌های این گیاه در درمان بیماری‌های پوستی و التهابی می‌باشد (Fronza *et al*., 2009).

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است و به‌خوبی مشخص شده که اثر تنش آبی بر رشد و عملکرد بستگی به ژنوتیپ گیاه دارد (Bannayan *et al.*, 2008)؛ اما شرایط محیطی (Tesfamariam *et al*., 2010) و مدیریت گیاه (Rathke *et al*., 2006) نیز تعیین کننده عملکرد کمّی و کیفی در گیاهان است. کشور ایران با متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی‌متر (معادل یک‌سوم میانگین جهانی) جزو مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌گردد (Jajarmi, 2009). کمبود آب در جریان تولید گیاهان می‌تواند صدمات فراوانی به رشد و نمو و همچنین مواد مؤثره‌ی دارویی گیاهان وارد نماید (Jafarzadeh *et al*., 2010). شناسایی زمان بحرانی و زمان‌بندی بر مبنای یک برنامه دقیق و اساسی برای گیاه، کلیدی برای نگهداری آب و بهبود عملیات آبیاری و قابلیت تحمل گیاه به کمبود آب در کشاورزی است. تنش خشکی علاوه بر اثر منفی بر عملکرد، باعث بروز یا تشدید سایر تنش‌ها مخصوصاً تنش کمبود عناصر غذایی برای گیاه می‌شود. در بین عناصر غذایی، نیتروژن نقش بسیار مهمی در تولید گیاهان دارد و کمبود آن یکی از عوامل محدود کننده تولید است. در شرایط کمبود آب در خاک، جذب عناصر غذایی خصوصاً نیتروژن کاهش‌یافته و این امر باعث می‌شود که تناسب مطلوبی بین میزان فراهمی آب و مصرف کود برقرار گردد تا از مصرف بی‌رویه نیتروژن که تأثیری بر عملکرد دانه ندارد، خودداری گردد (Hamzehi and Babaie, 2016). تعیین میزان مناسب نیتروژن برای رشد همیشه‌بهار حایز اهمیت است، چون نیتروژن زیاد برای همیشه‌بهار مناسب نبوده و سبب تحریک رشد رویشی، کاهش رشد زایشی و در نتیجه کاهش تعداد گل‌ها می‌شود و در مقادیر بیش از حد، سوختگی مشاهده می‌شود (Pasaki *et al*., 2016; Omidbeigi, 2000). عامری و همکاران (Ameri *et al*., 2010) اظهار داشتند بیشترین عملکرد گل خشک در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به میزان ۱۰۲/۸۶ گرم در متر مربع به‌دست آمد وکاهش میزان نیتروژن به ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، باعث ۱۶/۹۳ درصد کاهش عملکرد گل خشک شده و مقدار آن به ۸۵/۴۳ گرم در متر مربع رسید. تیمارهای نیتروژن و تراکم روی صفات رویشی و عملکرد همیشه‌بهار تأثیر معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که بیشترین عملکرد خشک در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به‌دست آمده است. در مطالعه اثر کم‌آبی

و کود نیتروژنه بر عملکرد و اجزای عملکرد گل همیشه‌بهار موسوی و همکاران (Moosavi *et al*., 2014) مشاهده شد با افزایش سطح کود نیتروژنه از صفر به ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار تعداد گل در مترمربع، عملکرد خشک و تر به‌صورت معنی‌داری به مقدار ۳۳/۷، ۳۶/۸ و ۳۵/۴ درصد افزایش یافته است. آنها اظهار داشتند آبیاری بعد از ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه بهترین تیمار برای کشت گل همیشه‌بهار در منطقه بیرجند است. شوکرانی و همکاران (Shokrani *et al*., 2012) در بررسی اثر زمان‌های قطع آبیاری و نیتروژن زیستی بر خصوصیات عملکردی و روغن اسانس گل همیشه‌بهار گزارش کردند بالاترین عملکرد گل با متوسط ۲۷۴۲/۹۱ کیلوگرم در هکتار به تیمار آبیاری نرمال (بدون قطع آبیاری) و ۶ کیلوگرم در هکتار نیتروژن زیستی و بیشترین عملکرد اسانس روغن با متوسط ۲۳/۹۵ کیلوگرم در هکتار و درصد اسانس روغن به تیمار قطع آبیاری در برداشت اول و ۹ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن زیستی اختصاص داشت. جعفرزاده و همکاران (Jafarzadeh *et al*., 2014) گزارش کردند با افزایش سطح خشکی در همیشه بهار طول ریشه (۱۶٪)، محتوی آنتوسیانین (۲۳٪)، کاروتنوئید (۷۱٪)، قندهای محلول (۳۶٪)، محتوی پرولین (۴۷٪) و رنگیزه‌های فتوسنتزی (۶۳٪) افزایش یافت. بیشترین میزان عملکرد گل و عصاره در آبیاری مطلوب حاصل شد، لذا تحت تنش شدید عملکرد گل ۲۰ درصد و میزان عصاره به ۵۰ درصد تقلیل یافت. در مطالعه همتی و همکاران (Hemmati *et al*., 2018) تنش کم‌آبیاری، موجب افزیش درصد اسانس، کربوهیدرات، کاروتنوئیدها و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. همچنین، تنش آبی، میزان کلروفیلa، b، کلروفیل کل، لیزین و متیونین را در گل همیشه بهار کاهش داد.

با توجه به اهمیت گونه دارویی همیشه‌بهار و لزوم بررسی مدیریت زراعی به‌ویژه نیتروژن به‌عنوان عنصری ضروری برای رشد و دور آبیاری به‌عنوان عوامل تعیین‌کننده میزان بهره‌وری محیطی، این آزمایش با هدف اثر سطوح کود نیتروژنه بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گل همیشه بهار در دورهای مختلف آبیاری در شرایط محیطی شهرستان ارومیه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر دور آبیاری و مقادیر مختلف کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی همیشه‌بهار آزمایشی به‌صورت اسپیلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در بهار دو سال ۹۶-۱۳۹۵ در ایستگاه کشاورزی ساعتلوی ارومیه انجام شد. این محل در عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۴ دقیقه و ۱۸ ثانیه شمالی و طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۱۰ دقیقه و ۵۳ ثانیه شرقی با ارتفاع ۱۳۳۸ متر از سطح دریا در ۲۷ کیلومتری شمال غرب شهرستان ارومیه واقع شده است. تیمارهای این تحقیق شامل دور آبیاری در چهار سطح (آبیاری بعد از ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز) در کرت‌های اصلی و مصرف کود شیمیایی نیتروژن از منبع اوره در چهار سطح (عدم کاربرد، ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار) بر اساس نتایج آزمون خاک در کرت‌های فرعی بود (Pazoki *et al*., 2016). قبل از اجرای آزمایش از عمق ۳۰ سانتی‌متری زمین نمونه‌گیری و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک تعیین گردید (جدول ۱). عملیات آماده‌سازی بستر کاشت شامل دیسک و لولر در اوایل اسفندماه انجام شد. بذرها روی ۶ ردیف ۶

متری با فاصله ۵۰ سانتی‌متر از یکدیگر با عمق کاشت ۲ تا ۳ سانتی‌متر در نظر گرفته شدند. عملیات کاشت در ۲۵ اسفند به‌صورت دستی انجام شد. به‌منظور یکنواختی و تسهیل در سبز شدن اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت انجام شد. در مرحله ۴ تا ۶ برگی بوته‌ها برای رسیدن به تراکم مورد نظر (۵۰ بوته در متر مربع) تنک شدند (فاصله بین بوته‌ها ۱۰ سانتی‌متر). وجین دستی علف‌های هرز طی ۳ مرحله بعد از سبز شدن، ۴ تا ۶ برگی و هم‌زمان با بسته شدن تاج پوشش انجام شد. ۵۰ درصد هر یک از تیمارهای کودی در نظر گرفته شده در مرحله ۴ تا ۶ برگی (همزمان با تنک) و ۵۰ درصد در مرحله گلدهی به‌صورت سرک مصرف شد. لازم به ذکر است که حجم آب داده شده در کل دوره رشد در تیمار آبیاری بعد از ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز به‌ترتیب برابر ۱۲۵۰۰، ۱۰۳۰۰، ۷۵۰۰ و ۴۴۰۰ متر مکعب در هکتار بود، آبیاری به‌صورت قطره‌ای و با نصب کنتور انجام شد. اعمال تنش پس از استقرار گیاه (مرحله ۴ تا ۵ برگه شدن) انجام شد. پس از شروع گلدهی در نیمه تیرماه، برداشت گل هفته‌ای یک‌بار از مساحت یک متر مربع از هر کرت تا پایان دوره گلدهی انجام شد. گل‌های برداشت شده پس از توزین در آون و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیده و مجدداً توزین می‌شدند. مجموع گل خشک تولیدی طی فصل گلدهی از حاصل جمع وزن خشک گل در طی مراحل برداشت برای هر کرت به‌دست آمد در سه مرحله از رشد شامل اوایل گلدهی (۳۰ تیر ماه)، اواسط گلدهی (۳۰ شهریور ماه) و اواخر گلدهی (۳۰ آبان‌ماه) نمونه‌های خشک شده گل به میزان ۱۰۰ گرم از هر کرت جهت تعیین میزان عصاره و اسانس به آزمایشگاه ارسال گردید.

میزان عصاره با استفاده از روش اتانول ۷۰٪ و میزان اسانس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر تعیین گردید (Ameri *et al*., 2006). همچنین، در مرحله گلدهی گیاه، غلظت رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئید برگ با روش لیچتنتالر (Lichtenthaler, 1994) و مقدار پرولین در برگ با روش بیتس و همکاران (Bates *et al*., 1973) اندازه‌گیری شدند.

محتوای آب نسبی برگ و شاخص سطح برگ بر اساس فرمول شماره ۱ و ۲ درمرحله بعد از گلدهی محاسبه شدند:

$$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD} \qquad (۱)$$

FW= وزن‌تر، DW= وزن خشک (بعد از قرارگیری نمونه برگ‌ها در آون ۷۵ درجه سلسیوس و حصول وزن ثابت) و TW= وزن آماس (بعد از غوطه‌ور شدن نمونه برگ‌ها در داخل آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت)

$$LAI = LA/LG \qquad (۲)$$

LA= مساحت برگ و LG= مساحت زمین اشغال شده

جهت اندازه‌گیری ضریب هدایت روزنه‌ای از روش رامیرز و کلی (Ramirez-Vallejo and Kelly, 1998) و جوان‌ترین برگ‌های توسعه یافته استفاده شد. در هر کرت سه برگ انتخاب و هدایت روزنه‌ای در دو طرف برگ‌ها با پرومتر مدل (SC-1 LEAF POROMETER, Decagon Devices, Pullman, Washington, USA) در ساعات اولیه صبح انجام شد. عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب عملکرد خشک گل در درصد اسانس بوته به‌دست آمد.

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کلیه نمونه‌های برداشت‌شده از برگ گیاهان (در مرحله بعد از گلدهی) در در نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز به‌ترتیب از روش‌های بریتون و ماهلی (Britton and Mehley, 1995) و بولر و همکاران (Bowler *et al*., 1991) استفاده شد. تعیین غلظت پرولین در بافت برگ بر اساس روش بیتس (Bates,1973) استفاده شد. برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدهید و سایر آلدهیدها که محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع هستند، اندازه گیری گردید. اندازه گیری مالون دی‌آلدهید (MDA) با روش هس و پاکر (Heath and Packer, 1969) انجام شد. جهت محاسبات آماری در مرحله نخست آزمون نرمال بودن داده‌ها (آزمون کولموگروف-اسمیرنوف) انجام گرفت و پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس امیدهای ریاضی، با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد.

## نتایج و بحث

**شاخص سطح برگ:** در این بررسی بین سطوح آبیاری در سطح احتمال یک درصد و کود نیتروژن و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال پنج درصد از لحاظ اثر بر شاخص سطح برگ تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل دور آبیاری در کود نیتروژن از لحاظ اثر بر شاخص سطح برگ نشان داد کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن در دور آبیاری بعد از ۵ روز و کاربرد ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار در دور آبیاری بعد از ۱۰ روز بالاترین شاخص سطح برگ را به خود اختصاص دادند. کمترین شاخص سطح برگ نیز به دور آبیاری بعد از ۲۰ روز و تیمار شاهد کود نیتروژنه (عدم مصرف کود نیتروژنه) تعلق داشت. در این بررسی با افزایش تعداد روزهای دور آبیاری در تیمار شاهد کود نیتروژنه از شاخص سطح برگ کاسته شد به نحوی‌که دور آبیاری بعد از ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز شاخص سطح برگ را در مقایسه با دور آبیاری بعد از ۵ روز به‌ترتیب ۳۱/۰۸، ۶۶/۴۴ و ۸۳/۳۳ درصد کاهش دادند (جدول ۴). رشد سلول یکی از حساس‌ترین فرآیندهای گیاه به تنش آبی است و قبل از فتوسنتز یا هدایت روزنه‌ای کاهش پیدا می‌کند. تنش خشکی باعث کاهش پتانسیل اسمزی از حد متوسط شده، در نتیجه فشار تروگر و پتانسیل آبی شیره‌ی سلولی کاهش پیدا می‌کند (UR Rahman *et al*., 2004).

در این بررسی کاربرد ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه، شاخص سطح برگ را در مقایسه با تیمار شاهد در دورهای آبیاری بعد از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز به‌ترتیب درصد ۱۶/۲۰، ۷۹/۷۹ و ۶۴/۴۷ افزایش داد، اما در دور آبیاری بعد از ۲۰ روز بین سطوح کود نیتروژنه از نظر شاخص سطح برگ اختلاف معنی‌دار دیده نشد (جدول ۴). همچنین، در دو دور آبیاری بعد از ۱۰ و ۱۵ روز نیز کاربرد ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه به صورت معنی‌داری بر مقدار شاخص سطح برگ افزود. یکی از عوامل مؤثر در توسعه سطح برگ هر بوته و به تبع آن توسعه سایه‌انداز، میزان نیتروژن است که با تأثیر بر اندازه و طول عمر هر برگ موجب افزایش شاخص سطح برگ می‌شود. مقدار نیتروژن مصرفی تأثیر زیادی بر تولید و گسترش سطح برگ دارد. گیاهان با دریافت نیتروژن بیشتر، سطح برگ بزرگ‌تری خصوصاً در برگ‌های بالایی نسبت به گیاهان با نیتروژن مصرفی کم، داشتند (Sepehri *et al*., 2002). مقیمی و امام (Moghimi and Imam, 2013) اظهار داشتند با افزایش شدت تنش کم آبی از شاخص سطح برگ

کاسته می‌شود اما کاربرد کود نیتروژنه موجب بهبود این شاخص شد.

**محتوی آب نسبی برگ:** در این مطالعه تفاوت بین سطوح آبیاری در سطح احتمال یک درصد و کود نیتروژنه در سطح احتمال پنج درصد از لحاظ اثر بر محتوی آب نسبی برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). بالاترین محتوی آب نسبی برگ با متوسط ۸۶/۴۸ درصد به دور آبیاری بعد از ۵ روز اختصاص داشت. با افزایش تعداد دور آبیاری از محتوی نسبی آب برگ کاسته شد و در دور آبیاری بعد از ۲۰ روز با متوسط ۵۴/۷۹ درصد به حداقل مقدار خود رسید (جدول ۳). طبق گزارش خان و اعظم (Khan and Azam, 2007) گیاهانی که تحت تنش رطوبتی قرار می‌گیرند، فضای بین سلولی و میزان آب در پیکره خود را از طریق افزایش مواد اسمزی در درون بافت‌ها به حداقل می‌رسانند تا آب از بافت خاک با نیروی بیشتری وارد شود این امر موجب کاهش میزان آب نسبی برگ در شرایط تنش خشکی می‌گردد (Khan and Azam, 2007). نتایج تحقیقات قنبری و همکاران (Ghanbari *et al*., 2013) بر روی گیاه لوبیا و خان و همکاران (Khan and Azam, 2007) بر روی باقلا نشان دادند که در شرایط تنش خشکی محتوی آب نسبی برگ به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. شمسی (Shamsi, 2010) اظهار داشت با کاهش محتوی آب نسبی برگ روزنه‌ها بسته می‌شوند و با بسته شدن روزنه‌ها سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک کاهش می‌یابد، علت این امر پایین‌تر بودن محتوای آب برگ‌های در معرض کمبود آب نسبت به پتانسیل توان جذب آب آنها می‌باشد که با تشدید تنش، پتانسیل فشاری برگ افت کرده و با بسته شدن روزنه‌ها فتوسنتز و رشد و نمو دچار وقفه می‌شود، در مطالعه مقدسان و همکاران (Moghadasan *et al*., 2015) تنش کم آبی به‌صورت معنی‌دار از محتوی آب نسبی برگ در همیشه بهار کاست.

مقایسه میانگین اثر سطوح کود نیتروژنه بر محتوی نسبی آب برگ نشان داد کاربرد کود نیتروژنه در هر سه سطح اثر مثبتی بر افزایش محتوی آب نسبی برگ داشت به‌طوری‌که سطوح ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ مقدار صفت مذکور را در مقایسه با تیمار شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژنه) به ترتیب ۱۱/۸۹، ۱۳/۹۳ و ۱۵/۱۹ درصد افزایش داد (جدول ۳). گزارش‌های متعددی مبنی بر این‌که افزایش کاربرد کودهای شیمیایی به‌خصوص نیتروژن و مصرف کربوهیدرات‌ها از طریق افزایش ساخت پروتئین‌ها و افزایش ضخامت دیواره سلولی باعث جذب بیشتر آب توسط پروتوپلاسم و بهبود محتوای نسبی آب برگ می‌شود وجود دارد (Inanloufar *et al*., 2013; Malakoti and Homaei, 2003).

**ضریب هدایت روزنه‌ای:** بر اساس نتایج جدول تجزیه مرکب داده‌ها اثر دور آبیاری در سطح احتمال یک، سطوح کود نیتروژنه در سطح احتمال پنج درصد و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال یک درصد بر ضریب هدایت روزنه‌ای برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). در بررسی حاضر بالاترین ضریب هدایت روزنه‌ای به تیمار دور آبیاری بعد از ۵ روز و کاربرد ۱۶۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار اختصاص داشت. کمترین مقدار صفت مذکور نیز به تیمار دور آبیاری بعد از ۱۵ و ۲۰ روز در سطح شاهد کود نیتروژنه (عدم کاربرد کود نیتروژنه) دیده شد. تنش کم آبی از ضریب هدایت روزنه‌ای کاست به‌طوری‌که در سطح شاهد کود نیتروژنه، دورهای آبیاری بعد از ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز ضریب هدایت روزنه‌ای را در مقایسه با دور آبیاری بعد از

۵ روز به‌ترتیب ۲۲/۲۵، ۳۷/۴۵ و ۴۲/۳۹ درصد کاهش دادند (جدول ۴). در سه دور آبیاری بعد از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه ضریب هدایت روزنه‌ای را به‌صورت معنی‌دار در مقایسه با شاهد در دورهای آبیاری یکسان افزایش داد (جدول ۴). بین تیمارهای کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه در دورهای آبیاری بعد از ۱۰ و ۱۵ روز و همچنین کاربرد ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار در دور آبیاری ۲۰ روز و تیمار دور آبیاری بعد از ۵ روز و عدم استفاده از کود نیتروژنه اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد، که بیانگر اثر مثبت کود نیتروژنه در تعدیل اثر تنش کم آبی بر ضریب هدایت روزنه‌ای است. کاهش فتوسنتز طی وقوع خشکی یکی از انواع مکانیسم‌های دفاعی گیاهان است (Chegah *et al*., 2013). جلوگیری از رشد همراه با بسته شدن روزنه‌ها جزو اولین پاسخ‌های گیاهان به خشکی است. مکانیزم پیچیده است فتوسنتزی در کلروپلاست‌ها عمدتاً و در طی مراحل اولیه خشکی محدودیت عمده در فتوسنتز ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد. به‌طورکلی، فرض بر این است که تنش خشکی به علت تأثیر در بسته شدن روزنه‌ها در نتیجه کاهش دسترسی به $CO_2$ در مزوفیل (به‌جای اثر مستقیم روی میزان فتوسنتز ظاهری) باعث کاهش فتوسنتز گیاه می‌شود. به‌طور واضح بسته شدن روزنه‌ها یکی از پاسخ‌های اولیه به خشکی خاک است و کاهش موازی در فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای تحت تنش خشکی به دفعات گزارش شده است (Chaves, 2002). رویز و همکاران (Ruiz-Sanchez *et al*., 2011) گزارش کردند که محدودیت آبی باعث کاهش هدایت روزنه‌ای در تریتیکاله می‌شود. به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر کاربرد کود نیتروژنه موجب گسترش ریشه و دسترسی بهتر به منابع آبی شده و از این طریق موجب کاهش آبسیزیک اسید و افزایش هدایت روزنه‌ای شده است (Rodriguez *et al*., 2005).

**کلروفیل a**: نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها حاکی از آن بود که اثر دور آبیاری در سطح احتمال یک درصد و سطوح کود نیتروژنه و اثر سال در سطح احتمال پنج درصد بر مقدار کلروفیل a معنی‌دار بود (جدول ۲). در مقایسه میانگین دورهای مختلف آبیاری مشاهده شد افزایش تعداد روزهای آبیاری از ۵ به ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز مقدار کلروفیل a را به‌ترتیب ۲۴/۲۵، ۳۳/۳۳ و ۵۴/۴۹ درصد کاهش دادند (جدول ۳). مرادی و پورقاسمیان (Moradi and Pourghasemian, 2018) گزارش کردند اثر سطوح آبیاری بر محتوی کلروفیل a معنی‌دار بود و با افزایش شدت تنش کم آبی از شرایط آبیاری نرمال به آبیاری بعد از ۲۵درصد ظرفیت مزرعه‌ای به‌صورت معنی‌داری از محتوی کلروفیل a در گیاه همیشه بهار کاسته شد. در بین سطوح کود نیتروژنه کلیه تیمارهای کاربرد کود نیتروژنه مقدار کلروفیل a را در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت معنی‌دار افزایش دادند ولی بین تیمارهای کاربرد کود نیتروژنه اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۳). کود شیمیایی نیتروژنه باعث می‌شود که میزان نیتروژن در دسترس گیاه و در نتیجه جذب و انتقال آن به برگ‌ها افزایش یافته و سنتز کلروفیل بیشتر می‌شود. در اثر کمبود نیتروژن در گیاه، کلروزیس به وجود می‌آید که باعث کاهش رشد گیاه و پیری زودرس برگ‌ها می‌شود. به همین دلیل گزارش شده که کمترین شاخص کلروفیل برگ ذرت در کل مراحل رشد گیاه از تیمار عدم کاربرد کود به‌دست آمده است

(Majidian *et al*., 2008). بنابراین، به‌واسطه ارتباط مستقیم بین غلظت نیتروژن و کلروفیل برگ، افزایش در میزان نیتروژن گیاه، شاخص مقدار کلروفیل را هم افزایش می‌دهد. امیری و همکاران (Amiri *et al*., 2015) در گیاه شوید نشان دادند که فاصله آبیاری ۳ روز یک‌بار به‌همراه مصرف ۲۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار بالاترین محتوای کلروفیل a ،کلروفیل b و کلروفیل کل را در مقایسه با دیگر تیمارها به خود اختصاص دادند.

**کلروفیل b:** در تحقیق حاضر اثرهای دور آبیاری و کود نیتروژنه و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال یک درصد بر محتوی کلروفیل b معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل دور آبیاری و کود نیتروژنه از لحاظ اثر بر محتوی کلروفیل b نشان داد استفاده از ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار، بالاترین مقدار صفت مذکور را به خود اختصاص دادند هر چند بین دو تیمار مذکور و تیمار کاربرد ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار در دور آبیاری بعد از ۵ روز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. کمترین محتوی کلروفیل b نیز در این بررسی به تیمار شاهد کود نیتروژنه در دورهای آبیاری بعد از ۱۵ و ۲۰ روز و همچنین کاربرد ۸۰ کیلوگرم در هکتار در دور آبیاری بعد از ۲۰ روز اختصاص داشت (جدول ۴). در تحقیق حاضر کاربرد ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار در دور آبیاری بعد از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز محتوی کلروفیل برگ را در مقایسه با تیمار شاهد در هر سه دور آبیاری مذکور به‌ترتیب ۶۴/۱۱، ۶۵/۲۵ و ۳۳/۵۲ درصد افزایش دادند (جدول ۴). تنش خشکی با ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید اکسیژن‌های فعال سبب تجزیه و تخریب کلروفیل می‌شود. در طی تنش، کلروفیل‌ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوئیدی ناپدید می‌گردند. تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی کاهش دهنده فعالیت اکسیژن فعال و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگدانه‌ها می‌گیرد (Ruiz-Sanchez *et al*., 2011). در مطالعه مقدسان و همکاران (Moghadasan *et al*., 2015) تنش خشکی به‌صورت معنی‌دار از محتوی کلروفیل a و b کاست اما تلقیح بذر با میکوریزا این مقدار کاهش را تعدیل نمود.

**محتوی کارتنوئید:** نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب داده‌ها از نظر محتوی کارتنوئید گل همیشه بهار نشان داد اثر دور آبیاری در سطح احتمال یک درصد و سطوح کود نیتروژنه و سال در سطح احتمال پنج درصد بر صفت مذکور معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد بالاترین محتوی کارتنوئید برگ به دور آبیاری بعد از ۵ روز اختصاص داشت. کمترین مقدار این صفت به دور آبیاری بعد از ۲۰ روز اختصاص داشت. هر چند بین دور مذکور و دورهای ۱۰ و ۱۵ روز اختلاف معنی‌دار دیده نشد (جدول ۳). از جمله نقش‌های مهم کاروتنوئید، محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها است. جیارامراجا و همکاران (Jeyaramraja *et al*., 2005) مشاهده کردند که تنش ملایم آب سبب افزایش کاروتنوئیدها می‌شود، در حالی که کمبود شدید آب موجب کم شدن کاروتنوئیدها علاوه بر کاهش کلروفیل شد. کاهش محتوی کارتنوئید در گیاه همیشه بهار در مطالعه مرادی و پورقاسمیان (Moradi and Pourghasemian, 2018) نیز گزارش شده است. در تحقیق حاضر محتوی کارتنوئید برگ واکنش مثبتی به کاربرد کود نیتروژنه نشان داد به‌طوری‌که در بین سطوح کود نیتروژنه سطح کاربرد ۲۴۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در

هکتار بالاترین و تیمار شاهد کمترین محتوی کارتنوئید را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

**محتوی پرولین:** در این مطالعه اثر سطوح آبیاری در سطح یک درصد بر مقدار محتوی پرولین برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین سطوح آبیاری از لحاظ اثر بر محتوی پرولین برگ حاکی از آن بود که با افزایش شدت تنش کم آبی بر محتوی صفت مذکور افزوده شد به نحوی‌که دور آبیاری بعد از ۲۰ روز محتوی پرولین برگ را در مقایسه با دور آبیاری بعد از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز به‌ترتیب ۲۴/۷۲، ۱۲/۶۷ و ۵/۸۰ درصد افزایش داد (جدول ۳). یکی از مکانیسم‌های کارآمدی که گیاه به هنگام مواجه با خشکی برای حفظ تورژسانس و آماس سلولی به خدمت می‌گیرد، تنظیم اسمزی است. در طی این پدیده فیزیولوژیکی، پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش، در اثر انباشت یک سری مواد اسمزی در سلول‌ها کاهش می‌یابد، بنابراین فشار تورگر سلول‌ها در حد مطلوب نگهداری می‌شود. مواد اسمزی شامل تجمع مولکول‌های آلی نظیر پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌ها و یون‌های معدنی همچون پتاسیم، کلسیم و سدیم می‌باشد. در بین این مواد احتمالاً پرولین فراوان‌ترین تنظیم کننده اسمزی به‌شمار می‌آید. پرولین یک اسید آمینه مهم در گیاه است که در شرایط تنش خشکی از اکسیداسیون درون سلولی و تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند و فشار اسمزی گیاه را برای جذب آب تنظیم می‌کند، بنابراین، افزایش محتوی پرولین در تحقیق حاضر را می‌توان یک واکنش دفاعی در برابر آسیب‌های تنش کم آبی دانست. در مطالعه مقدسان و همکاران (Moghadasan *et al*., 2015) و مرادی و پورقاسمیان (Moradi and Pourghasemian, 2018) و تنش کم آبی به صورت معنی‌دار محتوی پرولین برگ را در گل همیشه بهار افزایش داد.

**درصد اسانس:** نتایج جدول تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد اثر سطوح آبیاری در سطح احتمال یک درصد، کود نیتروژنه در سطح احتمال پنج درصد و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال یک درصد بر درصد اسانس همیشه بهار معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش تعداد روزهای دور آبیاری از ۵ به ۱۵ روز به غیر از سطح ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار در کلیه سطوح کودی بر درصد اسانس افزوده شد (جدول ۴) به‌طوری‌که، بالاترین درصد اسانس در تحقیق حاضر به تیمارهای دور آبیاری بعد از ۱۰ و ۱۵ روز همراه با سطوح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم به‌ترتیب با متوسط ۰/۲۵۴، ۰/۲۵۷، ۰/۲۴۷ و ۰/۲۴۹ درصد اختصاص داشت. در مطالعه حاضر در هر سه دور آبیاری ۵، ۱۰ و ۱۵ روز افزایش سطح کودی تا ۱۶۰ کیلوگرم توانست بر درصد اسانس به‌صورت معنی‌دار بیفزاید. افزایش سطح کود نیتروژنه به ۲۴۰ کیلوگرم نتوانست درصد اسانس را در مقایسه با تیمار شاهد و دیگر سطوح کودی افزایش دهد. همچنین، کمترین درصد اسانس گل به تیمار دور آبیاری بعد از ۲۰ روز همراه با ۱۶۰ کیلوگرم کود نیتروژنه با متوسط ۰/۱۹ درصد اختصاص داشت. هرچند بین تیمار مذکور و دیگر تیمارهای دور آبیاری ۲۰ روز همراه با سطوح شاهد، ۸۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در این مطالعه بالاترین درصد اسانس گل در دور آبیاری بعد از ۱۵ روز مشاهده شد، بنابراین می‌توان اظهار داشت گیاه همیشه‌بهار تنش‌های متوسط خشکی را به‌راحتی تحمل می‌نماید بدون اینکه تأثیری بر اسانس و عملکرد اسانس داشته باشد. با توجه به اینکه بیشتر مطالعات انجام‌شده تأکید بر افزایش

مقدار اسانس در شرایط تنش خشکی دارد می‌توان اظهار داشت احتمالاً در سطح مذکور این افزایش ممکن است در دیگر اندام‌های گیاه مانند برگ‌ها انجام گرفته باشد. در شرایط تنش خشکی تولید مواد مؤثره به دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درونی سلولی افزایش می‌یابد. افزایش مقدار اسانس تحت شرایط خشکی در اثر افزایش تعداد غده‌های ترشحی اسانس در برگ و گل‌ها است. دلیل دیگر آن این است که گیاهان در شرایطی که با تنش‌های محیطی مواجه می‌شوند، مقدار آسیمیلات کمتری برای رشد جدید گیاه تخصیص می‌دهند و با تعادل کربوهیدرات‌ها بین رشد و سیستم دفاعی باعث تولید بیشتر ترپن‌ها می‌گردند (Khan *et al*., 2000). علی‌عبدی فراهانی (Aliabadi farahani *et al*., 2007) در آزمایش‌هایی روی گشنیز و صفی‌خانی (Safikhani, 2007) روی گیاه دارویی بادرشبو نیز چنین نتیجه‌ای به‌دست آوردند. در مورد تأثیر نیتروژن بر درصد اسانس محققین نشان دادند که کود نیتروژن بر درصد اسانس بابونه تأثیر معنی‌داری دارد و سبب افزایش آن می‌شود (Tohidi Nejad and Rastegari, 2019). فرنز (Franz, 1983) اظهار داشت میزان اسانس بابونه با افزایش کود نیتروژن و فسفر افزایش می‌یابد و با کاربرد کود پتاسیم کاهش می‌یابد. نیتروژن در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس و بیوسنتز اسانس و مواد مؤثره در گیاهان دارویی نقش مهمی ایفا می‌کند.

**عملکرد خشک گل**: در این تحقیق بین تیمارهای دور آبیاری در سطح احتمال پنج درصد و سطوح کود نیتروژنه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر دور آبیاری بر عملکرد خشک گل حاکی از آن بود که با افزایش طول دوره آبیاری از عملکرد خشک گل کاسته شد (جدول ۳) به‌نحوی‌که آبیاری بعد از ۲۰ روز عملکرد خشک گل را در مقایسه با دوره‌ای آبیاری بعد از ۵ و ۱۰ به‌ترتیب ۴۵/۷۷ و ۴۶/۶۵ درصد کاهش داد. کاهش وزن گلبرگ موجب کاهش وزن گل و در نهایت کاهش عملکرد می‌شود. پژوهشگران در تحقیقی روی گیاه همیشه بهار دریافتند کاهش عملکرد گل ناشی از کاهش اندازه اجزای آن است. با افزایش تنش، عملکرد گل همیشه بهار کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش مواد فتوسنتزی به علت کاهش سطح برگ و انتقال مواد آسیمیلاتی به سمت گل‌ها سبب کاهش وزن آنها می‌شود (Hopkins, 1995). رحمانی و همکاران (Rahmani *et al*., 2009) بیان نمودند که با افزایش فاصله آبیاری عملکرد گل، دانه و وزن هزار دانه گیاه همیشه بهار کاهش یافت. در بررسی حاضر سطح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم کود نیتروژنه در هکتار به ترتیب با متوسط۵۵۳/۱۰ و ۵۴۳/۱۵ کیلوگرم در هکتار بالاترین عملکرد خشک گل را به خود اختصاص دادند. کمترین مقدار صفت مذکور نیز با متوسط ۴۲۳/۴۶ و ۴۳۱/۱۷ کیلوگرم در هکتار به‌ترتیب به سطوح شاهد و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار اختصاص یافت (جدول ۳). در تحقیق حاضر کاربرد بیش از ۱۸۰ کیلوگرم اختلاف معنی‌دار با شاهد از لحاظ عملکرد گل نشان نداد. به نظر می‌رسد که علت این امر تولید فراوان شاخ و برگ، بر اثر افزایش کود نیتروژن باشد که موجب شده شاخ و برگ‌های جوان همانند یک مخزن قوی عمل کرده و مواد غذایی سنتز شده در فتوسنتز را به سمت خود جذب کنند و در نتیجه تمایز جوانه‌های رویشی به زایشی را مختل کرده و گل تشکیل نشود. نکته مهم در

این مورد، ایجاد تعادل مناسب بین رشد رویشی و زایشی (در جهت افزایش هرچه بیشتر رشد زایشی) همیشه بهار است، زیرا این گیاه عادت رشد نامحدود داشته و از مرحله شروع گلدهی، رشد رویشی و زایشی به موازات یکدیگر صورت می‌گیرد. در مطالعه عامری و همکاران (Ameri *et al.*, 2006) بالاترین وزن خشک گل در گل همیشه بهار در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه گزارش شد.

**عملکرد اسانس:** در این بررسی اثر دور آبیاری، سطوح کود نیتروژنه و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد اسانس بوته معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسات میانگین تیمارها نشان داد بالاترین عملکرد اسانس به ترتیب با متوسط ۱۵/۰۸ و ۱۵/۵۹ کیلوگرم در هکتار به سطوح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه در دور آبیاری ۱۰ روز اختصاص داشت، همچنین کمترین مقدار صفت مذکور با متوسط ۶/۹۵ کیلوگرم در هکتار به تیمار شاهد کود نیتروژنه در دور آبیاری بعد از ۲۰ روز اختصاص یافت، بین تیمار مذکور و تیمارهای دور آبیاری بعد از ۲۰ روز در هر چهار سطح کود نیتروژنه اختلاف معنی‌دار دیده نشد (جدول ۴). در تحقیقی تنش کم‌آبیاری، موجب افزیش درصد اسانس، کربوهیدرات، کاروتنوئیدها و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. همچنین، تنش آبی، میزان کلروفیلa، b، کلروفیل کل، را در گل همیشه بهار کاهش داد (Hemmati *et al.*, 2018). از آنجا که عملکرد اسانس حاصل‌ضرب درصد اسانس در عملکرد ماده خشک کل است بالا بودن عملکرد اسانس در دور آبیاری بعد از ۱۰ روز و در سطوح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم کود نیتروژنه به بالا بودن اجزای عملکرد اسانس یعنی عملکرد ماده خشک و درصد اسانس مربوط می‌باشد. در مطالعه پازکی و همکاران (Pazoki *et al.*, 2016) بالاترین عملکرد اسانس را در گل همیشه بهار در کاربرد ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و ۲۰ تن ورمی کمپوست گزارش کردند.

**محتوی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت:** بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر دور آبیاری بر محتوی آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز و مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، همچنین اثر سطوح کود نیتروژن بر محتوی آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز در سطح احتمال یک درصد و بر محتوی مالون دی آلدهید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

**کاتالاز:** در تحقیق حاضر بالاترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در دور آبیاری بعد از ۲۰ روز (با متوسط ۲/۳۰ $\mu mol.g^{-1}$ FW) مشاهده شد به نحوی‌که سطح مذکور مقدار فعالیت این آنزیم را در مقایسه با دورهای آبیاری بعد از ۵، ۱۰ و ۱۵ روز به‌ترتیب ۳۳/۰۴، ۱۷/۸۲ و ۱۲/۱۷ درصد افزایش داد، کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز به دور آبیاری بعد از ۵ روز (با متوسط $\mu mol.g^{-1}$ FW ۱/۵۴) اختصاص یافت. لیما و همکاران (Lima *et al.*, 2002) کردند که در شرایط تنش خشکی فعالیت کاتالاز در رقم مقاوم ۱۱۰ درصد و در رقم حساس ۵۸ درصد افزایش یافت. آنها اظهار می‌دارند که فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در رقم مقاوم باعث حذف ترکیبات اکسیداتیوی و سطوح کمتر تراوش یونی از غشای سلولی تحت تنش شده است. در بین سطوح کود نیتروژنه بالاترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز به‌ترتیب با متوسط ۲/۱۴$\mu mol\ g^{-1}$ FW و ۲/۰۴ به سطوح شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژنه) و سطح ۲۴۰ کیلوگرم در

هکتار اختصاص یافت، کمترین مقدار فعالیت آنزیم مذکور نیز به‌ترتیب با متوسط $\mu mol\ g^{-1}$ FW ۱/۶۱ و ۱/۶۵ به سطوح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه اختصاص داشت (جدول ۳). در مطالعه سی و سه مرده و همکاران (Siosemardeh *et al*., 2014) تنش کم آبی به صورت معنی‌دار بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در جو افزود، اما استفاده از کود نیتروژنه موجب کاهش فعالیت این آنزیم شد که همسو با نتایج مطالعه حاضر است.

**سوپراکسید دیسموتاز:** در این بررسی با افزایش تعداد روز دور آبیاری بر مقدار فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز افزوده شد هر چند این افزایش بین دورهای آبیاری بعد از ۱۰ و ۱۵ روز از لحاظ آماری معنی‌دار نبود، بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم مذکور به‌ترتیب با متوسط $mg\ g^{-1}$ FW ۱/۸۳ و ۱/۱۸ به دورهای آبیاری بعد از ۵ و ۲۰ روز اختصاص یافت (جدول ۳). با تشدید تنش کم آبی مقدار رادیکال‌های آزاد تولیدی در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو افزایش خواهند یافت، بنابراین گیاه برای مقابله با این تنش سطح تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانت همانند سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش خواهد داد. در بین سطوح کود نیتروژنه بالاترین مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به سطح شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژنه) اختصاص یافت و کاربرد سطوح ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه مقدار فعالیت آنزیم مذکور را در مقایسه با تیمار شاهد به‌ترتیب ۱۷/۵۱، ۱۷/۵۱ و ۱۹/۷۷ درصد کاهش داد، بین سطوح کود نیتروژنه از لحاظ اثر بر مقدار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۳). در این رابطه دیگو و همکاران (Diego *et al*., 2003) و امینی و همکاران (Amini *et al*., 2009) نیز گزارش کردند که اعمال کود نیتروژنه فعالیت پراکسیداز را کاهش داده است.

**مالون دی‌آلدهید:** تیمارهای دور آبیاری از لحاظ اثر بر مقدار فعالیت مالون دی‌آلدهید به دو گروه دسته بندی شدند در گروه اول دور آبیاری بعد از ۵ و ۱۰ روز قرار داشت که به‌ترتیب با متوسط $mg\ g^{-1}$ FW ۱/۱۰ و ۱/۰۷ کمترین مقدار فعالیت آنزیم مذکور را به خود اختصاص دادند، در دسته دوم نیز دو سطح آبیاری بعد از ۱۵ و ۲۰ روز قرار داشت که به ترتیب با متوسط $mg\ g^{-1}$ FW ۱/۳۴ و ۱/۳۹ بالاترین مقدار فعالیت آنزیم مذکور را به خود اختصاص دادند، در این بررسی با افزایش شدت تنش کم آبی بر مقدار فعالیت مالون دی‌آلدهید افزوده شد، با توجه به اینکه مالون دی‌آلدهید با پراکسیداسیون چربی‌های غشای سلولی مرتبط است می‌توان گفت در دورهای آبیاری بعد از ۱۵ و ۲۰ روز پراکسیداسیون چربی غشا شدت می‌گیرد. گزارش شده است که تنش خشکی تاثیر به‌سزایی بر کاهش پایداری غشای سلولی دارد. تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی فرونشاننده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد، که این امر منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و در نتیجه خسارت به غشای سلولی و همچنین تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد (Bahavar *et al*., 2009). در تحقیق حاضر بالاترین مقدار مالون دی‌آلدهید به سطح شاهد کود نیتروژنه ($mg.g^{-1}$ FW ۱/۳۷) اختصاص یافت، هر چند بین سطح مذکور و سطح ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد، کمترین مقدار مالون دی آلدهید به‌ترتیب با متوسط $mg\ g^{-1}$ FW ۱/۱۰ و ۱/۱۶ به سطوح ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود

نیتروژنه اختصاص داشت (جدول ۳). در تحقیق حاضر کاربرد کود نیتروژنه به‌خصوص در مقادیر بالا به واسطه توسعه سیستم ریشه‌ای بر محتوی آب نسبی برگ افزود، این افزایش می‌تواند اثر تنش کم آبی را تعدیل و میزان تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی‌های غشای را کاهش دهد.

## نتیجه‌گیری کلی

در تحقیق حاضر با افزایش تعداد روزهای دور آبیاری از ۵ به ۲۰ روز محتوی آب نسبی برگ، کلروفیل a وکارتنوئید کاهش و محتوی پرولین، فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدهید افزایش نشان دادند. می‌توان نتیجه گرفت تنش کم آبی با القای تنش اکسیداتیو موجب ایجاد خسارت بر خصوصیاتی رشدی گیاه همیشه بهار شده است، بنابراین جهت بهبود خصوصیات رشدی و اجتناب از تنش اکسیداتیو، آبیاری مناسب گیاه همیشه بهار ضروری است. در بین سطوح کود نیتروژنه نیز استفاده از ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار از بالاترین محتوی آب نسبی برگ، کلروفیل a، کارتنوئید و کمترین فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی‌آلدهید را به خود اختصاص داد، لذا می‌توان نتیجه گرفت سطح مذکور کود نیتروژنه با بهبود خصوصیات رشدی گیاه به خصوص محتوی آب نسبی برگ توانسته است خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را در گیاه تعدیل نماید. با توجه به اینکه اسانس و همچنین عملکرد اسانس از مهم‌ترین اهداف کشت گل همیشه بهار است در این تحقیق حداکثر اسانس گل در تیمار ۱۶۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و دور آبیاری بعد از ۱۰ و ۱۵ روز مشاهده شد، بنابراین جهت صرفه‌جویی در نهاده‌های تولید دور آبیاری بعد از ۱۵ روز و کاربرد ۸۰ کیلوگرم به لحاظ اقتصادی و زیست محیطی قابل توصیه است.

**جدول ۱-** نتایج تجزیه خاک محل اجرای آزمایش

**Table 1**- Soil physical and chemical characteristics of the experimental site

| شوری Salinity (ds/m) | درصد اشباع Saturation (%) | درصد آهک Lime (%) | رس Clay (%) | شن Sand (%) | درصد کربن آلی Organic matter (%) | پتاسیم قابل‌جذب Available potassium (ppm) | فسفر قابل‌جذب Available phosphorous (ppm) | درصد کل نیتروژن Total nitrogen (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.3 | 49 | 17 | 31 | 25 | 1.1 | 335 | 4.8 | 0.11 |

**جدول۲** - تجزیه واریانس مرکب صفات مرتبط با خصوصیات آنزیمی در دو سال و دو شرایط بهینه رطوبتی و تنش کم آبی

**Table 2-** Combined analysis of variance of traits related to enzymatic properties in two years and two normal and water deficit conditions

| منابع تغییر S.O.V. | درجه آزادی df | شاخص سطح برگ Leaf area index | محتوی آب نسبی برگ Relative water content | ضریب هدایت روزنه ای Stomatal conduction coefficient | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کارتنوئید Carotenoid |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| سال Year | 1 | $0.0009^{ns}$ | $201.74^{ns}$ | $41.58^{ns}$ | $0.17^{*}$ | $0.66^{ns}$ | 1.47* |
| تکرار در سال R×Y | 4 | 0.46 | 492.23 | 27.40 | 0.17 | 0.26 | 1.17 |
| آبیاری Irrigation | 2 | 7.32** | 4556.94** | 593.50** | 4.45** | 4.69** | 1.45** |
| سال × آبیاری I×Y | 3 | $0.04^{ns}$ | $80.02^{ns}$ | $10.94^{ns}$ | $0.09^{ns}$ | $0.15^{ns}$ | $0.07^{ns}$ |
| خطای۱ Error 1 | 16 | 0.31 | 258.05 | 21.76 | 0.06 | 0.23 | 0.38 |
| کود نیتروژن Nitrogen | 3 | 3.17* | 652.40* | 410.98* | 0.54* | 3.01** | 1.87* |
| سال × نیتروژن N×Y | 3 | $0.26^{ns}$ | $27.97^{ns}$ | $33.57^{ns}$ | $0.03^{ns}$ | $0.10^{ns}$ | $0.09^{ns}$ |
| آبیاری × نیتروژن N×I | 9 | 0.71* | $75.92^{ns}$ | 73.74** | $0.04^{ns}$ | 0.85** | $0.98^{ns}$ |
| سال× آبیاری × نیتروژن Y×I×N | 9 | $0.16^{ns}$ | $105.67^{ns}$ | $13.51^{ns}$ | $0.05^{ns}$ | $0.13^{ns}$ | $0.23^{ns}$ |
| خطای ۲ Erorr 2 | 48 | 0.32 | 57.66 | 25.35 | 0.03 | 0.23 | 0.34 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | | 24.44 | 10.59 | 23.29 | 8.31 | 20.55 | 25.14 |

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

ns, * and ** nonsignificant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

**ادامه جدول ۲**

**Table 2-** Continued

| منابع تغییر S.O.V. | درجه آزادی df | پرولین Proline | درصد اسانس Essential oil percentage | عملکرد خشک گل Dry flower yield | عملکرد اسانس Essential oil yield | کاتالاز CAT | سوپراکسید دسموتاز SOD | مالون دی آلدهید MAD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| سال Year | 1 | $0.77^{ns}$ | $0.018^{ns}$ | $20956^{ns}$ | $0.51^{ns}$ | 1.48** | $0.006^{ns}$ | $0.30^{ns}$ |
| تکرار در سال R×Y | 4 | 1.97 | 0.020 | 21751 | 1.15 | 0.51 | 0.94 | 0.28 |
| آبیاری Irrigation | 2 | 36.73** | $0.22^{**}$ | $357128^{*}$ | 129. 7** | 2.37** | 1.83** | 0.63** |
| سال × آبیاری I×Y | 3 | $1.23^{ns}$ | $0.028^{ns}$ | $37542^{ns}$ | $0.02^{ns}$ | $0.29^{ns}$ | $0.17^{ns}$ | 0.03ns |
| خطای۱ Error 1 | 16 | 0.86 | 0.005 | 50197 | 8.45 | 0.19 | 2.33 | 0.10 |
| کود نیتروژن Nitrogen | 3 | $0.49^{ns}$ | $0.989^{*}$ | $192518^{**}$ | 60.39** | 1.24** | 0.62** | 0.74* |
| سال × نیتروژن N×Y | 3 | $0.18^{ns}$ | $0.091^{ns}$ | $2351^{ns}$ | $0.019^{ns}$ | $0.12^{ns}$ | $0.02^{ns}$ | $0.06^{ns}$ |
| آبیاری × نیتروژن N×I | 9 | $0.09^{ns}$ | $0.51^{**}$ | $9845^{ns}$ | 8.86** | $0.07^{ns}$ | $0.12^{ns}$ | $0.08^{ns}$ |
| سال× آبیاری × نیتروژن Y×I×N | 9 | $0.32^{ns}$ | $0.012^{ns}$ | $3761^{ns}$ | $0.019^{ns}$ | $0.28^{ns}$ | $0.09^{ns}$ | $0.09^{ns}$ |
| خطای ۲ Erorr 2 | 48 | 0.52 | 0.06 | 48842 | 2.34 | 0.17 | 0.10 | 0.09 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | | 6.44 | 11.46 | 13.18 | 14.36 | 21.37 | 20.90 | 24.51 |

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

ns, * and ** nonsignificant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

**جدول ۳**- مقایسه میانگین اثر ساده سطوح دور آبیاری و نیتروژن بر صفات مورد بررسی در گیاه دارویی همیشه‌بهار

**Table 3-** Mean comparison for simple effects of irrigation regimes and nitrogen levels on studied traits of pot marigold

| دور آبیاری (روز) Irrigation Intervals (day) | محتوی آب نسبی برگ (درصد) Relative water content | کلروفیل a (mg $g^{-1}$ FW) Chlorophyll a | عملکرد خشک گل (Kg/h) Dry flower yield | محتوی کارتنوئید (mg $g^{-1}$ FW) Carotenoid | پرولین (µmol $g^{-1}$ FW) Proline | کاتالاز (mg $g^{-1}$ FW) CAT | سوپراکسید دسموتاز (mg $g^{-1}$ FW) SOD | مالون دی آلدهید (mg $g^{-1}$ FW) MAD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 86.48a | 2.92a | 581.18a | 2.18a | 11.69d | 1.54c | 1.18c | 1.10b |
| 10 | 78.37b | 2.35b | 586.31a | 1.76b | 12.94c | 1.89b | 1.47b | 1.07b |
| 15 | 67.15c | 2.19c | 453.21c | 1.66b | 13.78b | 2.02b | 1.63b | 1.34a |
| 20 | 54.79d | 1.89d | 315.15d | 1.65b | 14.58a | 2.30a | 1.83a | 1.39a |
| **کود نیتروژن** (کیلوگرم در هکتار) Nitrogen levels ($kg.ha^{-1}$) | | | | | | | | |
| 0 | 64.07b | 2.36b | 423.46b | 1.52b | 12.8 | 2.14a | 1.77a | 1.37a |
| 80 | 72.72a | 2.34ab | 553.10a | 1.84ab | 13.01 | 1.61b | 1.46b | 1.10b |
| 160 | 74.44a | 2.37a | 543.15a | 1.88a | 13.51 | 1.65b | 1.46b | 1.16b |
| 240 | 75.55a | 2.41a | 431.17b | 2.02a | 13.12 | 2.04a | 1.42b | 1.27ab |

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Means with the same letter are not significantly different at p-value 5%.

**جدول ۴**- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح دور آبیاری و نیتروژن بر صفات مورد بررسی در گیاه دارویی همیشه‌بهار

**Table 4-** Mean comparison for interaction effects of irrigation regimes and nitrogen levels on studied traits of pot marigold

| دور آبیاری (روز) Irrigation Intervals (day) | کود نیتروژن Nitrogen levels ($kg.ha^{-1}$) | شاخص سطح برگ Leaf area index | ضریب هدایت روزنه‌ای Stomata conduction coefficient ($Mmol/m^2s$) | کلروفیل b (mg $g^{-1}$ FW) Chlorophyll b | درصد اسانس Essential oil percentage | عملکرد اسانس Essential oil yield ($kg.ha^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 0 | 2.53bcd | 24.27bcd | 2.09d-g | $0.19^{e}$ | $10.23^{de}$ |
| | 80 | 2.70bc | 25.81bc | 2.73b-e | $0.20^{cde}$ | $12.15^{bc}$ |
| | 160 | 3.37a | 32.77a | 3.04ab | $0.22^{b}$ | $12.52^{bc}$ |
| | 240 | 2.94ab | 31.89a | 3.43a | $0.20^{cde}$ | $12.66^{b}$ |
| 10 | 0 | 1.93d-g | 18.87d-h | 2.13d-g | $0.19^{cde}$ | $10.34^{de}$ |
| | 80 | 1.87d-g | 18.40e-h | 2.09d-g | $0.24^{a}$ | $15.08^{a}$ |
| | 160 | 2.41b-e | 23.26b-f | 2.57d-g | $0.24^{a}$ | $15.59^{a}$ |
| | 240 | 3.47a | 27.99ab | 3.52a | $0.21^{bcd}$ | $10.88^{cde}$ |
| 15 | 0 | 1.52fg | 15.18h | 1.76g | $0.21^{bc}$ | $7.23^{g}$ |
| | 80 | 2.17c-f | 21.07c-g | 2.16d-g | $0.25^{a}$ | $11.39^{bcd}$ |
| | 160 | 1.96d-g | 24.04b-e | 2.65bcd | $0.25^{a}$ | $12.43^{bc}$ |
| | 240 | 2.50bcd | 19.15d-h | 2.35c-f | $0.21^{b}$ | $9.20^{ef}$ |
| 20 | 0 | 1.38g | 13.95h | 1.78g | $0.20^{cde}$ | $6.95^{g}$ |
| | 80 | 1.54fg | 16.09gh | 1.64g | $0.19^{de}$ | $8.33f^{g}$ |
| | 160 | 1.62fg | 15.36gh | 1.85fg | $0.19^{e}$ | $7.94f^{g}$ |
| | 240 | 1.81efg | 17.86fgh | 2.03efg | $0.19^{cde}$ | $7.44f^{g}$ |

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Means with the same letter are not significantly different at p-value 5%.

## References منابع مورد استفاده


- Aliabadi Farahani, H., M.H. Lebaschi, A.H. Shiranirad, A.R. Valadabadi, A. Hamidi, and J. Daneshian, 2007. Effects of mycorrhizal fungi, arbuscular, different levels of phosphorus and drought stress on herbal essential oils of coriander. Proceedings the Third Conference on Herbal Medicine, Shahed University, 2-3 November, Tehran, Iran. (In Persian).
- Ameri, A., M. Nassiri, and P. Rezvani1. 2010. Effects of different nitrogen levels and plant density on flower, essential oils and extract production and nitrogen use efficiency of marigold (*Calendula officinalis*). *Iranian Journal of Field Crops Research*. 5(2): 315-325. (In Persian).
- Amini, Z., R. Hadad, and F. Moradi. 2009. The effect of water deficit stress on antioxidant enzymes during generative growth stages in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Crop Production and Processing*. 12(46): 65-74.
- Amiri, M., S. Mansourifar, K. Sadat Asilan, and H. Heydari. 2015. Effect of irrigation interval and nitrogen fertilizer on seed yield and pigment content. *Plant Products*. 83(4): 71-80. (In Persian).
- Anderson, V.M. 2013. Calendula officinalis and production of secondary compounds in greenhouse and soil-based herbal organic production systems. Ph.D. Thesis in Plant and Soil Sciences University of Kentucky. Paper 26.
- Bahavar, N., A. Ebadi, A. Tobeh, and S. H. Jamati Somarin. 2009. Effects of nitrogen application on growth of irrigated chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress in hydroponics conditions. *Research Journal of Environmental Sciences*. 3(4): 448-455.
- Bannayan, M., F. Nadjafi, M. Azizi, L. Tabrizi, and M. Rastgoo. 2008. Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*. 27: 11-16.
- Bates, L.S., R.P. Waldren, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for waterstress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Bowler, C., L. Slooten, S. Vandenbranden, R. De Rycke, J. BottermanSybesma, M. van Montagu, and D. Inzé. 1991. Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants. *The EMBO Journal*. 10: 1723-1732.
- Britton, C., and A. Mehley. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2: 764-775.
- Chaves, M. 2002. Water stress in the regulation of photosynthesis in the field. *Annals of Botany*. 89:907-916.
- Chegah, S., M. Chehrazi, and M. Albaji. 2013. Effects of drought stress on growth and development Frankenia plant (*Frankenia Leavis*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 19: 659-665.
- Diego, A.M., G. Vı´llora, and L. Romero. 2003. Variations in fruit micronutrient contents associated with fertilization of cucumber with macronutrients. *Scientia Horticulture*. 97: 121–127.
- Franz, C.H. 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae*. 132: 203-216.

- Fronza, M., B. Heinzmann, M. Hamburger, and S. Laufer. 2009. Determination of the wound healing effect of calendula extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. *Edmonton Journal*. 12(3): 463-477.
- Ghanbari, A.A., M.R. Shakiba, M. Toorchi, and A. Choukan. 2013. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. *European Journal of Experimental Biology*. 3(1): 487-492.
- Hamzehi, J., and M. Babaie. 2016. Reaction of morphological traits, yield components and yield of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) to integrated management of irrigation and nitrogen fertilizer. *Electronic Journal of Crop Production*. 9(4): 17-35. (In Persian).
- Heath, R.L., and L. Packer. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 125: 189–198.
- Hemmati, Kh., A. Ebadi, S. Khomari, and M. Sedghi. 2018. The Response of Pot Marigold Plant (*Calendula officinalis* L.) to Ascorbic Acid and Brassinosteroid under Drought Stress. *Journal of Crop Ecophysioloy*. 12(2):191- 210.
- Hopkins, W.G. 1995. Introduction to plant physiology. John Wiley and Sons, Inc. New York, USA. pp: 464.
- Inanloufar, M., H. Omidi, and A.R. Paski. 2013. Morphological, agronomic and oil content of purple oil (*Portulaca Oleracea* L.) affecting drought and nitrogen biological/chemical fertilizer. *Journal of Medicinal Plants*. 4(48): 170-184. (In Persian).
- Jafarzadeh, L., H. Omidi, and A. Bastani. 2014. Effect of drought stress and bio-fertilizer on flower yield, photosynthesis pigments and proline content of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 29(3): 666-680. (In Persian).
- Jafarzadeh, L., H. Omidi, and D. Jafari. 2010. The effect of drought stress on vegetative grouth, essential oil and proline content of *Calendula officinalis* L. 4th International Conference of Biology, Iran. 1261-1262. (In Persian).
- Jajarmi, V. 2009. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. World Academi Science Engineering Technology. 49; 105-106. In vitro evaluation of osmotic stress tolerance using a novel root recovery assay. *Plant and Cell.* 95(1): 101-106.
- Jeyaramraja, P.R., S.N. Meenakshi, R.S. Kumar, S.D. Joshi, and B. Ramasubramanian. 2005. Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camelia sinensis*) plants. *Plant Physiology*. 162: 413-419.
- Khan, M.M., and Z.M. Azam. 2007. Change in theessential oil conostiuents of *Foeniculum vulgare* in relation of basal and foliar afflication of nitrogenand phosphrus. *Journal of Plant Nutrition*. 11: 2205 - 515.
- Lichtenthaler, H.K. 1994. Chlorophylls and carotenoid pigments of photosynthetic Biol. Memberance. *Method in Enzymology*. 148: 350-382.
- Lima, A.L.S., F.M. DaMatta, H.A. Pinheiro, M.R. Totola, and M.E. Loureiro. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora*

under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* .47: 239-247.

- Majidian, M., A. Ghalavand, N.A. Karimian, and A.A. Kamkar Haghighi. 2008. Effect of nitrogen fertilizer, manure and irrigation water on yield and yield components of maize. *Electronic Journal of Crop Production*. 1(2): 67-85. (In Persian).
- Malakoti, M.J., and M. Homaei. 2003. Prodouctivity of soils in dry and semidry area, problems and solutions. Tarbiat Modares University Press, 494 p. (In Persian).
- Moghadasan, Sh., A. Safipour Afshar, and F. Saeid Nematpour. 2015. The role of mycorrhiza in drought tolerance of marigold (*Calendula officinalis* L.*). Journal of Crop Ecophysiology*. 4(34): 521-532. (In Persian).
- Moghimi, N., and Y. Imam. 2013. Morphophysiological characteristics and yield of two forage sorghum cultivars, under water stress and nitrogen levels. *Environmental Stresses in Crop Science*. 1: 27-36. (In Persian).
- Moosavi, S.G., M. Javad Seghatoleslami, A. Fazeli-Rostampoor, and Z. Jouyban. 2014. Response of marigold flower yield and yield components to water deficit stress and nitrogen fertilizer. *Journal of Ornamental Plants*. 4(3): 153-162. (In Persian).
- Moradi, R., and N. Pourghasemian. 2018. Effect of salicylic acid application on mitigating impacts of drought stress in marigold (*Calendula officinalis* L). *Water and Soil Science*. 28(2): 15-28. (In Persian).
- Omidbeigi, R. 2000. Production and processing of medicinal plants. Volume I, Second Edition, Tarahan Publication, 424 pp (In Persian).
- Pazoki, A.S., H.R. Tavakoli, and A. Rashidi. 2016. Evaluation of yield, yield components and essential oil of *Calendula officinalis* L. using nitrogen and vermicompost. *Agriculture Science.* 10(3): 629-644. (In Persian).
- Rahmani, N., J. Daneshian, S.A.R. Valadabadi, and M. Bigdeli. 2009. Effects of water deficit stress and application of nitrogen on yeld and growth characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L). *Iranian of Journal Field Crops Research*. 7(2): 443-450. (In Persian).
- Ramirez-Vallejo, P., and J.D. Kelly. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica*. 99: 127-136.
- Rathke, G.W., T. Behrens, and W. Diepenbrock. 2006. Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 117: 80-108.
- Rodriguez, P., A. Torrecillas, M.A. Morales, M.F. Ortuno, and M.J. Blanco. 2005. Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. *Environmental and Experimental Botany*. 53: 113-123.
- Ruiz-Sanchez, M., E. Armada, Y. Munoz, I.E. Garcia de Salamone, R. Aroca, J.M. Ruiz-Lozano, and R. Azcon. 2011. Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*. 168: 1031-1037.

- Safikhani, F. 2007. Effects of drought stress on yield and quality of medicinal plants *Deracocephalum moldavica* L. under field conditions. Ph.D. Dissertation, University of Ahvaz. (In Persian).
- Samsam Shariat, H. 2005. Selection of medicinal plants. Manny Publications. 264 PP.
- Sepehri, A., S.A.M. Modarese Sanavi, B. Qare Riyazi, and Y. Yamini. 2002. Effect of water deficit and different nitrogen rates on growth and development stages, yield and yield component of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural Sciences*. 4(3): 184-195. (In Persian).
- Shahrbabaki, S., S. Zoalhasani, and M. Kodory. 2013. Effects of sowing date and nitrogen fertilizer on seed and flower yield of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) in the Kerman. *Advances in Environmental Biology*. 7(13): 3925-3929.
- Shamsi, K. 2010. The effect of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrate and cholorophyll of bread wheat cultivars. *Journal of Animal and Plant*. 3: 1051-1060.
- Shokrani, F., A. Pirzad, M.R. Pardoshti, and R. Darvishzadeh. 2012. Effect of biological nitrogen on the yield of dried flower and essential oil of *Calendula officinalis* L. under end season water deficit condition. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. 3(1): 24-34.
- Siosemardeh, A., H. Fateh, and H. Badakhshan. 2014. Responses of photosynthesis, cell membrane stability and antioxidative enzymes to drought stress and nitrogen fertilizer in two barley (*Hordeum vulgare*) cultivars under controlled condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 12(2): 215-228 (In Persian).
- Tesfamariam, E.H., J.G. Annandale, and J.M. Steyn. 2010. Water stress effects on winter canola growth and yield. *Agronomy Journal*. 102(2): 658-666.
- Tohidi Nejad, E., and F. Rastegari. 2019. Effects of biological and organic fertilizers on morphological parameters and chamazulene yield of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under drought stress condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 34: 949-963. (In Persian).
- Ur Rahman, M., S. Gul, and I. Ahmad. 2004. Effects of water stress on growth and photosynthetic pigments of corn (*Zea mays*. L) cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*. 6(4): 652-655.
- Vodnar, D.C. 2012. Inhibition of listeria monocytogenes ATCC 19115 on ham steak by tea bioactive compounds incorporated into chitosan-coated plastic films. *Chemistry Central Journal*. 6: 74-81.

**Research Article** DOI: 10.30495/jcep.2020.676139

# Effects of Nitrogen Fertilizer on Morphophysiological and Antioxidant Properties of *Calendula officinalis* L. under Irrigation Regimes

**Afsaneh Pirmani[1], Touraj Mir Mahmoodi[2]*, Soran Sharafi[2], and Saman Yazdan Seta[2]**

*Received: September 2019 , Revised: 22 March 2020, Accepted: 26 April 2020*

## Abstract

To study the effects of nitrogen levels on morphophysiological and antioxidants properties of calendula under deferent irrigation regimes a split plot experiment based on a randomized complete block design with three replications was conducted at the Urmia Agricultural Station of Saat Lo for two cropping seasons 2016-17. Treatments were four levels of irrigation (irrigation after 5, 10, 15 and 20 days) assigned to main plots, and application of 0, 80, 160 and 240 kg.ha$^{-1}$ nitrogen to subplots. Results showed that the effects of irrigation intervals on all studied traits waer significant. There were significant differences among nitrogen levels on all traits except proline content. Interaction of two treatments was significant on leaf area index, stomatal conduction coefficient, chlorophyll b, essential oil percentage, and essential oil yield. Resulats also indicated that, with increasing irrigation intervals from 5 to 20 days, relative water content, chlorophyll, carotenoid, and dry flower yield were reduced by 36.64, 35.27, 24.31 and 45.77 percent respectively. Proline content, catalase superoxide dismutase, and malondialdehyde activities were increased by 24.72, 33.04, 35.51 and 20.86 percent, respectively. Among the nitrogen fertilizer levels, 160 kg ha-1 increased, relative water content, chlorophyll a, carotenoid and dry flower yield by 16.18, 4.24, 23.68 and 28.26 percent, respectively, while it reduced the activity of catalase, superoxide dismutase, and malondialdehyde by 18.10, 21.23 and 29.69 percent respectively as compared to control. The highest leaf area index, stomatal conduction coefficient, chlorophyll b were increased by the use of 160 kg.ha$^{-1}$ nitrogen fertilizer and irrigation intervals of 5 days. The highest percentage of essential oil of the flower and essential oil yield were also belonged to the application of 160 kg.ha$^{-1}$ nitrogen and irrigation interval of 10 days. To obtain better quality and higher essential oil yield from calendula, irrigation interval of 10 days and application of 160 kg.ha$^{-1}$ nitrogen fertilizer is recommended.

**Key words**: Antioxidants, Leaf Area Index, Chlorophyll, Water Deficit.

1- Ph.D. Student of Agronomy, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Agronomy, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran.
**Corresponding Author: toraj73@yahoo.com*