



"مقاله پژوهشی"

بررسی تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غیر آنتی‌اکسیدانی و برخی صفات مورفولوژیکی تحت تنش خشکی در گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.)

سارا شریفی سلطانی^۱، غلامعلی رنجبر^۲، سید کمال کاظمی تبار^۱، علی پاکدین پاریزی^۳ و حمید نجفی زرینی^۱

۱- گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسول: ali.ranjbar@gmail.com)
۳- پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۳/۲
صفحه: ۱۱۹ تا ۱۳۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که بر روی گیاهان تأثیر می‌گذارد؛ بنابراین شناخت مکانیسم‌های که گیاه در مواجهه با تنش از خود نشان می‌دهد، ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور مطالعه تأثیر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه کرچک، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی ساری در سال ۸-۱۳۹۷ به اجرا درآمد. عامل اول شامل ۲۲ اکوتیپ کرچک و عامل دوم اعمال تنش خشکی در ۵ سطح، آبیاری کامل، قطع آبیاری در اوایل مرحله رشد سنبله به‌مدت (۱۱، ۲۲، ۳۳ و ۴۴ روز) انجام شد. در این پژوهش صفاتی شامل فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، فنل، فلاونوئید و میزان پروتئین و همچنین صفات مورفولوژیک مانند ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ نیز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، میزان پروتئین، فنل و فلاونوئید به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد در حالیکه میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید و همچنین ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ کاهش معنی‌داری را با افزایش تنش از خود نشان دادند. با توجه به نتایج تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش خشکی اکوتیپ‌های کرچک به سه خوشه تقسیم شدند. اختلاف بین اکوتیپ‌هایی که در گروه مقاوم قرار گرفتند در مقایسه با اکوتیپ‌های حساس تحت تنش در صفات سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، فنل، فلاونوئید، میزان پروتئین، ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ به‌ترتیب ۸۳/۴۱، ۸۳/۳۳، ۸۵/۵۷، ۸۴/۲۱، ۸۲/۰۸، ۸۸/۷، ۸۶/۴۴، ۸۶/۸۱، ۷۸ و ۸۰/۹ درصد بود. با توجه به نتایج اکوتیپ‌های ۲، ۳، ۵، ۸ و ۱۹ را می‌توان به عنوان اکوتیپ‌های مقاوم جهت کارهای اصلاحی بعدی معرفی نمود.

نتیجه‌گیری: در مجموع به‌نظر می‌رسد اکوتیپ‌های مقاوم با توجه به‌شدت آسیب‌دیدگی کمتر از نظر شاخص‌های رشدی و افزایش بیشتر در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و تجمع پروتئین، فنول و فلاونوئید میزان مقاومت بیشتری در برابر تنش خشکی از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: پروتئین برگ، تنش غیر زیستی، سوپراکسید دیسموتاز، کاروتنوئید، محتوای فنل و فلاونوئید

مقدمه

کمبود آب یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های زیست‌محیطی جهان محسوب می‌شود. به‌غیر از کشاورزی که بخش عمده مصرف آب با ۷۰ درصد را به خود اختصاص داده است چندین عامل دیگر از جمله تغییرات اقلیمی، صنعتی شدن، رشد سریع جمعیت، و شهرنشینی، آلودگی و ... فشار قابل توجهی را بر ذخایر آبی وارد می‌کند (۴۶). با این حال، از آنجا که کشاورزی عامل اصلی کمبود آب می‌باشد، یافتن راه‌حلی برای کاهش مصرف آب در این بخش ضروری است. یک راه‌حل شناسایی ارقام متحمل به خشکی می‌باشد و گیاه کرچک یک کاندیدای مهم به شمار می‌رود (۳۳). در چند دهه گذشته، شواهد علمی بیشتری برای اثبات این حقیقت که تغییرات اقلیمی و آب و هوایی به‌سرعت می‌تواند باعث تغییر تنوع بیولوژیکی و تولید محصولات در سراسر جهان گردد، ارائه شده است (۲۴). از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکننده تولید گیاهان تنش خشکی می‌باشد (۵۱). کرچک (*Ricinus communis* L.) گیاهی روغنی، دارویی غیرخوراکی از خانواده فرقیون (Euphorbiaceae) با عدد کروموزومی $2n=20$ می‌باشد (۳۵). این گیاه غالباً در مناطق حاشیه‌ای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری رشد می‌کند (۳۴). منشأ این گیاه شرق آفریقا و به‌احتمال زیاد کشور اتیوپی است (۴۲). از اولین فرایندهایی که تحت تنش خشکی قرار می‌گیرد، فتوسنتز است. گیاه تحت تنش خشکی، از طریق کاهش آب

قابل دسترس منجر به کاهش فتوسنتز می‌گردد (۴۵). کاهش سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی به‌دلیل کاهش محتوای کلروفیل به‌علت بسته شدن روزنه‌های گیاه و یا آسیب به دستگاه فتوسنتزی رخ می‌دهد (۶). کمبود آب در گیاه منجر به تسریع پیری و کاهش تجمع ماده خشک می‌شود و همچنین مانع فتوسنتز در گیاه می‌گردد (۲۵). تجزیه کلروپلاست جزء آغازی‌ترین و معنی‌دارترین تغییرات در طی تنش می‌باشد که به‌جای جذب کربن، کلروفیل و ماکرومولکول‌ها تجزیه می‌شوند (۳۸). تولید گونه‌های فعال اکسیژن و به دنبال آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کلروفیل از عوامل کاهش کلروفیل تحت تنش خشکی می‌باشد (۵۰).

کلروپلاست‌ها و تجزیه کلروفیل در اثر فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و پراکسیداز از جمله عوامل مؤثر بر کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب محسوب می‌شوند (۴۳). با توجه به اینکه تنش خشکی اثر بازدارندگی بر فعالیت‌های فیتوشیمیایی گیاه دارد در نتیجه باعث تغییر در محتوای کلروفیل برگ و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فرایند فتوسنتز را نیز می‌شود (۲۸). کاروتنوئیدها در مقاومت در برابر تنش خشکی مؤثر می‌باشند نقش آن‌ها جذب و انتقال فوتون‌های نوری و حفاظت بر علیه آسیب‌های اکسیداتیو ایجادشده به‌وسیله خشکی است و همچنین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل

تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی ساری به اجرا درآمد. عاوم شامل ۲۲ اکوتیپ کرچک که از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری شدند (جدول ۱) و عامل دوم تنش خشکی با ۵ سطح، آبیاری کامل (شاهد)، چهار سطح ۱۱، ۲۲، ۳۳ و ۴۴ روز بعد از قطع آبیاری می‌باشد. ابتدا بذور با هیپوکلرید سدیم (وایتکس) و قارچکش کربوکسی تیرام (ویتاواکس) ضدعفونی کامل و سپس در گلدان کشت شدند. بر اساس نیاز گیاه و با توجه به توصیه‌های زراعی در ابتدای کشت برای جلوگیری از خشکی و آسیب به گیاهچه‌ها به صورت منظم آبیاری و بعد از استقرار گیاه به صورت متوسط هر هفت روز یک‌بار انجام شد. قابل ذکر است که تنش خشکی در اوایل رشد سنبله اعمال و به مدت ۵۰ روز (۱۲۰-۷۰ روز پس از کاشت) آبیاری گیاهان قطع شد.

روش‌های اندازه‌گیری صفات

برای استخراج و اندازه‌گیری صفات مورد نظر، نمونه‌برداری در مراحل مختلف بعد از اعمال تنش (تنش در مرحله شروع سنبله‌دهی اعمال شد) (۱۱، ۲۲، ۳۳، ۴۴ روز بعد از قطع آبیاری) از نمونه‌های تحت تنش و هم‌زمان از نمونه‌های شاهد (آبیاری کامل) از برگ‌های جوان اکوتیپ‌های کرچک انجام شد و بلافاصله در فلاسک حاوی ازت مایع قرار داده و در دمای ۸۰- تا زمان سنجش صفات مورد بررسی نگهداری شد.

آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD با استفاده از میزان مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیموم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (دارای EDTA ۰/۱ میلی‌مولار)، ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار و NBT ۱۳ میلی‌مولار بود.

تمامی مواد واکنش به غیر از عصاره آنزیمی به دو لوله آزمایش اضافه شد و بعد به هر کدام مقدار مساوی از عصاره آنزیمی بافر فسفات پتاسیم افزوده شد این دو لوله فاقد عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد و بلانک در نظر گرفته و تمام لوله‌ها به غیر از نمونه بلانک (۱۲ هزار لوکس) به مدت ۱:۳۰ ثانیه در معرض نور شدید قرار داده شد در این فاصله نمونه بلانک در تاریکی قرار داده شد و با آن دستگاه اسپکتوفتومتر صفر گردید و از نمونه شاهد به‌منظور تخمین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد در نهایت میزان آنزیم بر حسب واحد آنزیمی بر گرم وزن تر گیاه گزارش شد (۷).

می‌کند و باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (۲). گیاهان با استفاده از سازوکارهای دفاعی به تنش پاسخ می‌دهند ترکیبات فنلی گروهی از متابولیت‌های ثانویه هستند که مانع عملکرد رادیکال‌های آزاد می‌گردند و از تخریب سلول‌ها جلوگیری می‌نمایند (۸). کاروتنوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست با وزن مولکولی کم در کلروپلاست می‌باشند که از غشای کلروپلاستی در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۲۹). در واقع گیاهان با تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی و کاروتنوئیدها از ساختارهای سلول خود در مقابل رادیکال‌های فعال تولیدشده تحت تنش محافظت می‌نمایند (۸). سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی مانند سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند گلوکاتینون به حذف گونه‌های اکسیژن فعال جهت حفظ هموستازی سلولی کمک می‌کنند (۵۲). آنزیم SOD در اواخر سال ۱۹۶۰ شناخته و در همه موجودات هوازی وجود دارد و در واقع نخستین سد دفاعی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که یون سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌نماید که در اثر فعالیت دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها مانند CAT و پراکسیداز به آب تبدیل می‌شود در واقع SOD در تمامی قسمت‌های گیاه به‌خصوص در مناطقی که یون سوپراکسید می‌باشد، وجود دارد (۵۴). کم‌آبی تنها در اثر کمبود آب ایجاد نمی‌شود بلکه در اثر تنش‌هایی نظیر دمای پایین یا شوری نیز دخیل می‌باشند، بنابراین در این فرایندها فعل و انفعالات و ترکیبات مولکولی زیادی دخالت دارند تمامی این تنش‌ها دارای یک اثر منفی بر روی تولید گیاه می‌باشند (۴۰). با توجه به اینکه مطالعات اندکی بر روی گیاه کرچک و مکانیسم‌های تحمل به خشکی در اکوتیپ‌های بومی ایران صورت گرفته است لذا هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تنش خشکی بر روی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنل و فلاونوئید و همچنین میزان آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و محتوای پروتئین برگ و ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ در اکوتیپ‌های کمتر شناخته‌شده کرچک می‌باشد که در نهایت بتوان با استفاده از این صفات متحمل‌ترین اکوتیپ‌ها را جهت برنامه‌های اصلاحی بعدی شناسایی نمود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۹۸-۱۳۹۷ در گلخانه

جدول ۱- نام و محل جمع آوری نمونه های مورد بررسی

Table 1. Name and place of collection of studied ecotypes

شماره اکوتیپ	منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	شماره اکوتیپ	منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱	ساری (جاده جویبار)	۴۷° ۲۸'	۳۳° ۳۰'	۱۲	ساری-فیروزکنده	۵۳° ۰۷'	۳۶° ۶۰'
۲	ساری (جاده نکا)	۵۳° ۱۵'	۳۶° ۳۳'	۱۳	بابلسر (پهنمیر)	۵۳° ۷۰'	۳۶° ۵۶'
۳	ساری (سورک)	۵۳° ۰۸'	۳۶° ۲۴'	۱۴	بابل (بیچی کالا)	۵۳° ۱۸'	۳۶° ۱۹'
۴	ساری (کردخیل)	۵۳° ۵۳'	۳۶° ۱۷'	۱۵	نجف آباد (اصفهان)	۵۱° ۳۲'	۳۳° ۶۱'
۵	ساری (دانشگاه علوم کشاورزی ساری)	۵۳° ۰۹'	۳۶° ۵۸'	۱۶	زابل	۶۱° ۴۷'	۳۱° ۰۳'
۶	ساری (کیاده)	۵۳° ۲۶'	۳۶° ۱۰'	۱۷	عراق-کربلا	۴۴° ۰۳'	۳۳° ۲۳'
۷	ساری (خزر)	۵۳° ۰۴'	۳۶° ۰۶'	۱۸	خرم آباد	۴۸° ۲۹'	۳۳° ۴۲'
۸	ساری (صاحبی)	۵۳° ۲۱'	۳۶° ۱۷'	۱۹	بردسیر	۵۶° ۵۷'	۲۹° ۹۱'
۹	اصفهان (شهرضا)	۳۲° ۵۱'	۳۳° ۱۷'	۲۰	فیروزکنده-التراسوند	-	-
۱۰	ساری (اکند)	۵۳° ۰۷'	۳۶° ۶۳'	۲۱	فیروزکنده-EMS 25	-	-
۱۱	ساری (ماهفروزمحل)	۵۳° ۰۹'	۳۶° ۲۷'	۲۲	فیروزکنده-EMS 50	-	-

سنجش میزان رنگیزه های فتوسنتزی کلروفیل

به منظور اندازه گیری رنگیزه های فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش از روش لیختن تابلر (۲۶) استفاده و میزان آن ها برحسب میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شد. ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد را به ۱۰۰ میلی گرم بافت برگ پودر شده اضافه و سپس مخلوط تهیه شده را به فالكون ۱۵ میلی لیتری منتقل شد فالكون ها را بر روی شیکر و در شرایط تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده و سپس نمونه ها با نیروی ۳۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. پس از انتقال مایع رویی به فالكون جدید، به آن ۵ میلی لیتر دیگر استون ۸۰ درصد اضافه و مخلوط مورد نظر را به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد و در آخر میزان جذب نمونه ها در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل SHIMADZU UV-1800 ساخت ژاپن خوانده و ثبت گردید.

پروتئین میزان پروتئین با استفاده از تست برادفورد برادفورد (۹) و با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتری در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری و میزان جذب هر نمونه یادداشت و ثبت گردید. در نهایت مقدار پروتئین برگ برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه گزارش شد.

فنل

اندازه گیری محتوای فنل با استفاده از روش سنجش Folin-Ciocalteu انجام شد (۲۷). میزان ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی هر نمونه گیاهی به صورت مجزا با ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ده برابر رقیق شده مخلوط و به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس ۰/۴ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه و مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. در نهایت میزان جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری و برای تهیه بلانک نیز به همین صورت عمل شد و فقط بجای عصاره متانولی از متانول ۸۰ درصد استفاده گردید. همچنین از گالیک اسید (GAE) به عنوان استاندارد جهت تهیه نمودار کالیبراسیون استفاده و میزان فنل برحسب میلی گرم گالیک اسید در یک گرم عصاره گزارش شد. فلاونوئیداز معرف آلومینیوم کلرید جهت اندازه گیری محتوای فلاونوئید استفاده گردید. بدین منظور به ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، ۱/۵

میلی لیتر متانول، ۱/۰ میلی لیتر از محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی لیتر از استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. میزان جذب مخلوط بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در برابر بلانک خوانده و ثبت شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از کوئرتستین به عنوان استاندارد استفاده گردید، و در نهایت محتوای فلاونوئید برحسب میلی گرم کوئرتستین در گرم عصاره گزارش شد. قابل ذکر است که آزمایش ها با سه تکرار انجام و میانگین آن ها گزارش گردید (۱۱).

ارتفاع گیاه

ارتفاع گیاه از سطح زمین تا حد آخرین برگ با استفاده از متر اندازه گیری و برحسب سانتی متر گزارش شد.

شاخص سطح برگ

جهت اندازه گیری از بین بوته های انتخابی، از سه قسمت انتهایی، وسط و پایین گیاه برگ را جدا نموده و در کنار خطکش از آن ها عکس تهیه و با استفاده از نرم افزار Digimazer v4.1.1.0 آنالیز و برحسب سانتی متر گزارش شد.

در نهایت به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SAS نسخه (۹،۱) و جهت مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید و در نهایت اکوتیپ ها بر اساس صفات مورد مطالعه با استفاده از تجزیه کلاستر، خوشه بندی با نرم افزار SPSS ver.22 انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه اثر اکوتیپ، خشکی و نیز برهمکنش میان آن ها در تمامی صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). این مطلب نشان دهنده این است که صفات مورد مطالعه تحت تأثیر اثرات فاکتورهای اصلی و همچنین برهمکنش آن ها قرار گرفته است با توجه نتایج مقایسه میانگین بین گروه های حاصله از خوشه بندی مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و همچنین محتوای پروتئین، فنل و فلاونوئید با افزایش سطوح تنش خشکی افزایش معنی داری را نشان دادند در سوی دیگر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کل) و کاروتنوئید و همچنین صفات مورفولوژیک (ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ) با افزایش

اکوتیپ‌های، ۱۴، ۱۸، ۲۱، ۲۲ که نتوانستند تا ۲۲ روز بعد از قطع آبیاری را تحمل کنند جز حساس‌ترین اکوتیپ‌ها قرار گرفتند.

شدت تنش کاهش معنی‌داری داشتند. قابل ذکر است که اکوتیپ‌های ۲، ۳، ۵، ۸ و ۱۹ که توانستند ۴۴ روز قطع آبیاری را تحمل کنند و زنده بمانند بر اساس تجزیه و تحلیل‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیک جزء متحمل‌ترین اکوتیپ‌ها و

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در اکوتیپ‌های مختلف کرچک

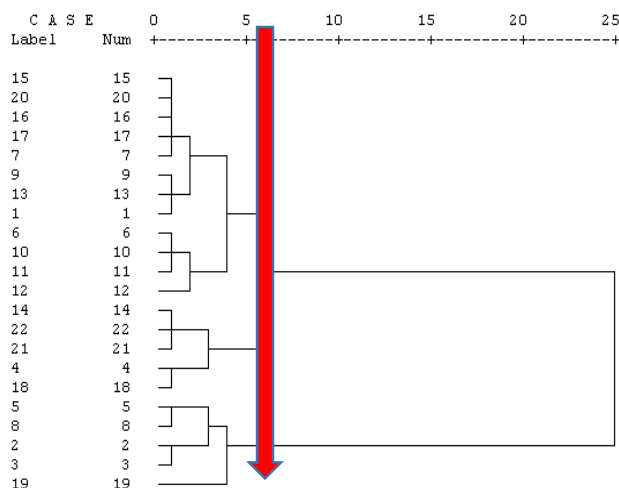
Table 2. Results of ANOVA of studied traits in different castor ecotypes

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کاروتنوئید	فنل	فلاونوئید	پروتئین	SOD	ارتفاع بوته	شاخص سطح برگ
اکوتیپ	۲۱	۰/۰۰۲۹**	۰/۰۰۰۳۵**	۰/۰۰۸۲**	۴۲۵/۶۹**	۶۰۴/۸۹**	۲/۷۹**	۶/۵۷**	۱۱۳۷۴/۱۶**	۴۳۳۱/۶۳**	۱۴۹۴۰/۲۹**
خشکی	۴	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۷۹**	۰/۰۰۰۰۶۱**	۶۴/۶۷**	۱۱۳۳/۸۶**	۴/۳۰**	۶/۵۹**	۷۵۵۴/۸۳**	۷۲۵۱/۲۰**	۶۰۰۱۷/۱۰**
اکوتیپ× خشکی	۸۴	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۰۰۸۳**	۰/۰۰۰۰۰۷۴**	۴/۱۴**	۱۵۴/۴۹**	۰/۷۴**	۰/۸۹**	۱۳۵۵/۷۸**	۱۳۱۶/۵۲**	۵۸۲۶/۸۴**
خطا	۲۲۰	۰/۰۰۰۰۰۱۸	۰/۰۰۰۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹۸	۰/۲۹۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۴/۶۱	۹/۳۴	۱۶/۵۷
cv	-	۴/۰۶	۵/۰۳	۲/۸۵	۲/۶۲	۵/۰۵	۵/۱۵	۹/۶۲	۵/۸۹	۶/۶۳	۴/۵۱

اکوتیپ‌های استان مازندران پاسخ‌های مشابه‌ای در برابر تنش خشکی از خود نشان دهند در حالیکه بر اساس خوشه‌بندی انجام شده در خوشه‌های متفاوتی قرار گرفتند که می‌توان گفت با توجه به ساختار ژنتیکی متفاوت هر اکوتیپ تفاوت ایجاد شده در پاسخ به تنش در اکوتیپ‌های یک منطقه طبیعی به نظر می‌رسد همچنین در پژوهشی که در گیاه کرچک انجام شد گزارش شد که اکوتیپ‌هایی که از منشأ جغرافیایی نزدیک می‌باشند ضرورتاً از نظر ژنتیکی شباهت بیشتری ندارند و در واقع هیچ گونه شواهدی از اثر منشأ جغرافیایی بر الگوی خوشه‌بندی در گیاه کرچک مشاهده نشده است (۳۷).

خوشه‌بندی سلسله مراتبی اکوتیپ‌های کرچک تحت تنش خشکی

جهت انتخاب محل دقیق برش و تعیین تعداد مناسب خوشه‌ها از روش حداقل واریانس وارد استفاده و صحت گروه‌های حاصله با روش تابع تشخیص ارزیابی شد (جدول ۳). تحت شرایط تنش خشکی تمامی اکوتیپ‌ها در سه خوشه طبقه‌بندی شدند. اکوتیپ‌های متحمل (۳، ۸، ۲، ۵ و ۱۹) در یک خوشه جداگانه قرار گرفتند. ارقام حساس دارای یک خوشه (۴، ۱۴، ۱۸، ۲۱، ۲۲) و خوشه ارقام نیمه متحمل نیز دارای دو زیرخوشه (۱۵، ۲۰، ۱۶، ۱۷، ۷، ۹، ۱۳ و ۱) و (۶، ۱۰، ۱۱، ۱۲) بودند. (شکل ۱). انتظار بر این بود که



شکل ۱- دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در اکوتیپ‌های کرچک بر اساس صفات مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی
Figure 1. The dendrogram of cluster analysis of Castor ecotypes basis on studied traits under drought stress conditions

جدول ۳- نتایج تجزیه تابع تشخیصی برای گروه‌بندی اکوتیپ‌های کرچک

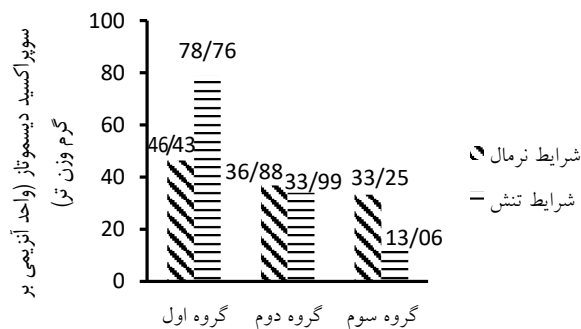
Table 3. Results of discriminant analysis for grouping Castor ecotypes

گروه‌ها	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	کل
تعداد	۱۲	۵	۵	۲۲
درصد	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	درصد
۱	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰
۲	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰
۳	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش افزایش می‌یابد در واقع اولین آنزیمی می‌باشد که در چرخه آنتی‌اکسیدانی فعال می‌گردد (۱۰). ژو و همکاران (۵۶) با بررسی تغییرات فیزیولوژیکی در دو ژنوتیپ کلزا در شرایط تنش خشکی گزارش کردند که با افزایش تنش در هر دو ژنوتیپ مورد بررسی میزان فعالیت آنزیم SOD افزایش می‌یابد. هم‌راستا با این نتایج محققین دیگر نیز بیان کردند فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش خشکی در گیاه روغنی کلزا افزایش می‌یابد (۴۸). در آزمایشی دیگر بر روی گیاه آفتابگردان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش خشکی به میزان ۸۹ درصد افزایش یافت (۳۶). طی بررسی که بر روی میزان تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه گندم تحت تنش خشکی انجام شد افزایش در فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT مشاهده شد (۱۸).

مقایسه میانگین بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد در شرایط تنش بیشترین میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مربوط به گروه متحمل با ۷۸/۷۶ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر و کمترین میزان مربوط به گروه حساس با میزان ۱۳/۰۶ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر می‌باشد (شکل ۲). همچنین بیشترین مقدار این آنزیم به ترتیب متعلق به اکوتیپ‌های ۵، ۳ و ۱۹ در ۴۴ روز پس از قطع آبیاری با میزان ۱۰۰/۰۹، ۹۱/۷۶ و ۹۰/۱۲ و کمترین میزان فعالیت مربوط به اکوتیپ‌های ۱۱، ۱۴ و ۴ با میزان ۳۰/۵۴، ۳۱/۴۳ و ۳۱/۹۵ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز تحت تنش خشکی بیانگر اثر آنزیم‌های فوق بر میزان کاهش خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو و نقش این آنزیم‌ها در مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۱۷).



شکل ۲- مقایسه میانگین بین گروهی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در شرایط تنش خشکی و نرمال

Figure 2. Comparison of intergroup mean of superoxide dismutase (SOD) in drought and normal stress conditions

کلروفیل یکی از عوامل کاهش میزان کلروفیل تحت تنش خشکی می‌باشد (۵۰). در مطالعه‌ای که به منظور مقایسه اثرات شوری و خشکی بر روی بهره‌وری فتوسنتزی، محتوای رنگدانه‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بر روی گیاه کرچک انجام شد، نتایج نشان داد که هر دو تنش خشکی و شوری باعث کاهش رنگدانه‌های کلروفیل در گیاه روغنی کرچک می‌شود اما اثرات مخربی که در اثر تنش خشکی در مقایسه با تنش شوری در این گیاه ایجاد می‌شود بیشتر می‌باشد (۴۴). بررسی واکنش‌های فیزیولوژیکی اکوتیپ‌های کرچک به تنش خشکی، بیانگر این بود که در شرایط تنش شدید به دلیل کاهش جذب تابش فعال فتوسنتزی به وسیله تاج گیاهی، روزنه‌ها بسته شده و کلروفیل کل کم می‌شود در نتیجه میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد (۳۰).

در مطالعه‌ای که در اکوتیپ‌های لوبیا قرمز در شرایط خشکی انجام شد نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل a و b شد (۵).

رنگی‌های فتوسنتزی

نتایج نشان داد تحت شرایط تنش خشکی گروه مقاوم بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل به ترتیب با مقادیر ۰/۰۲۳، ۰/۰۰۸۱ و ۰/۰۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و گروه حساس کمترین میزان را به ترتیب با میزان ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۳ داشتند (شکل ۳)؛ اما قابل ذکر است که در تمامی اکوتیپ‌های مورد بررسی با افزایش شدت تنش میزان رنگی‌های فتوسنتزی کاهش پیدا کرد بیشترین میزان کلروفیل a در شرایط آبیاری کامل مربوط به اکوتیپ‌های ۲ و ۳ و کمترین میزان آن نیز متعلق به اکوتیپ‌های ۱۸ و ۲۲ تحت تنش می‌باشد. بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به ترتیب اکوتیپ ۱۹ در شرایط آبیاری کامل (شاهد) و ۱۴ تحت تنش اختصاص یافت. بیشترین میزان کلروفیل کل نیز در اکوتیپ‌های ۱۹ و ۲ در شرایط آبیاری کامل و کمترین میزان در اکوتیپ‌های ۷ و ۱۷ مشاهده شد. تولید گونه‌های فعال اکسیژن و به دنبال آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب



شکل ۳- مقایسه میانگین بین گروهی رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش خشکی و نرمال
Figure 3. Comparison of intergroup mean of Photosynthetic pigments in drought and normal stress conditions

روزنه‌ای محدودکننده فتوسنتز در شرایط تنش خشکی به شمار می‌روند که عوامل غیر روزنه‌ای می‌تواند منجر به کاهش و یا توقف ساخت رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها شود (۳۲). تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل a، b و کل و محتوای کاروتنوئید در گیاه روغنی گلرنگ شد (۵۳). در مطالعه‌ای که به تاثیر تنش خشکی بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در دو رقم حساس و متحمل کلزا پرداخته شد اثرات متقابل رقم و تنش خشکی نشان داد که غلظت کاروتنوئید و رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط بدون اعمال تنش به دست آمد (۲۱).

کاروتنوئید

بر اساس نتایج با افزایش تنش میزان کاروتنوئید کاهش پیدا کرد و بیشترین میزان کاروتنوئید با مقایسات میانگین بین گروهی در شرایط تنش از گروه مقاوم با ۶/۴۲ و کمترین میزان آن به گروه حساس با میانگین ۱/۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حاصل شد (شکل ۴). همچنین بیشترین میزان کاروتنوئید به اکوتیپ‌های ۲، ۳، ۸ به ترتیب با مقادیر ۱۰/۲۶، ۹/۸۶ و ۹/۶۹ در شرایط بدون تنش و کمترین میزان کاروتنوئید متعلق به اکوتیپ‌های ۲۲، ۱۸ و ۱۴ با مقادیر ۲/۵۶، ۲/۹۹، ۲/۹۴ بود (شکل ۴). عوامل روزنه‌ای و غیر



شکل ۴- مقایسه میانگین بین گروهی کاروتنوئید در شرایط تنش خشکی و نرمال
Figure 4. Comparison of intergroup mean of Carotenoid in drought and normal stress conditions

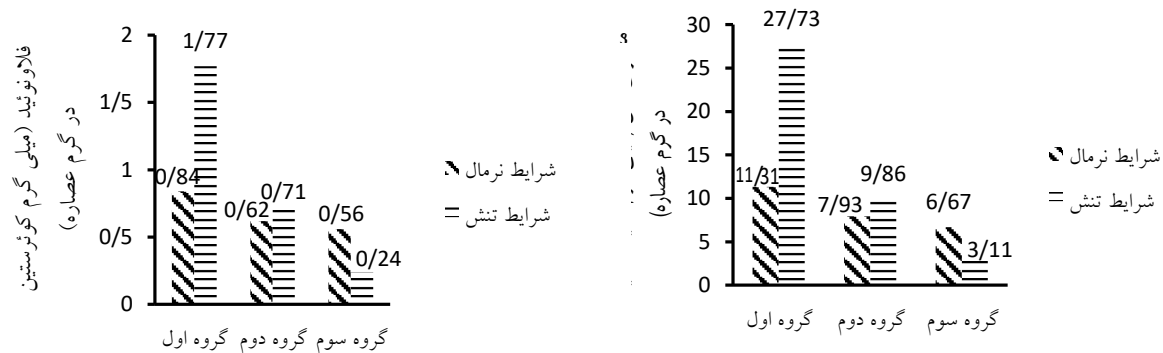
فنل

افزایش می‌یابد (۱۲). در واقع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از جمله متابولیت‌های ثانویه هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند و به مقاومت گیاه در مقابل تنش‌های اکسیداتیو کمک می‌کنند (۱۹).

فلاونوئید

مقایسات میانگین بین گروه‌های حساس، متحمل و نیمه متحمل نشان داد که ارقام متحمل تحت تنش بیشترین میزان فلاونوئید برگ با میزان ۱/۷۷ و کمترین میزان را ارقام حساس با مقدار ۰/۲۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره را دارا می‌باشند (شکل ۵) و با افزایش سطح تنش میزان فلاونوئید در تمامی اکوتیپ‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داد. بیشترین میزان فلاونوئید به ترتیب به اکوتیپ‌های ۵، ۳، ۲ با مقادیر ۲/۳۷، ۲/۳۱ و ۲/۲۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره، ۴۴ روز بعد از قطع آبیاری و کمترین میزان به اکوتیپ‌های ۴، ۱۸ و ۱۱ با مقادیر ۰/۳۶، ۰/۴۳ و ۰/۴۶ در شرایط آبیاری کامل (شاهد) اختصاص یافت. فلاونوئیدها با ممانعت از انتشار ROS به پاکسازیشان از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌نمایند (۴). غفار و همکاران (۱۶) در مطالعه‌ای بر روی لوبیا عنوان کردند که میزان فلاونوئید تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد. افزایش فلاونوئید برگ تحت تنش خشکی نشان‌دهنده نقش مهم راهبردهای غیر آنزیمی در مقابله با تنش اکسیداتیو می‌باشد.

مقایسه میانگین بین گروه‌ها بیانگر این بود که اکوتیپ‌های مقاوم در شرایط تنش بیشترین میزان ترکیبات فنلی با میزان ۲۷/۷۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره در حالیکه ارقام حساس کمترین میزان ترکیبات فنلی را با میزان ۳/۱۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره دارا بودند (شکل ۵). در تمامی اکوتیپ‌ها با افزایش سطح تنش میزان فنل در گیاه افزایش یافت بیشترین میزان فنل را اکوتیپ ۳ با ۵۲/۵۲ در ۴۴ روز بعد از قطع آبیاری و کمترین مقدار به اکوتیپ ۱۴ با ۳/۳۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره در شرایط بدون تنش (شاهد) اختصاص یافت. سنتز متابولیت‌های ثانویه مثل ترکیبات فنلی به علت عدم تحرک گیاهان باعث توسعه سازوکارهایی در آن‌ها شده است تا بتوانند در برابر شرایط نامطلوب محیطی مقاومت کنند (۴). ترکیبات فنلی به حذف گروه‌های ROS کمک می‌کنند (۳) و از فعالیت آنزیم‌های مسئول واکنش‌های اکسیژناسیون ممانعت می‌نمایند (۱۳). ترکیبات فنلی در گیاه دارویی-روغنی گلرنگ با افزایش شدت تنش افزایش معنی‌داری را نشان داد (۲۰). سبکا و همکاران (۴۱) تأثیر تنش خشکی بر ارقام محلی لوبیا در ایتالیا بررسی نمودند و نتایج پژوهش‌شان بیانگر تأثیر وارسته بر ترکیبات فنلی و متغیر بودن محتوای فنل کل در ارقام محلی بود. ترکیبات فنلی معمولاً در مواجهه با تنش‌های محیطی در گیاهان

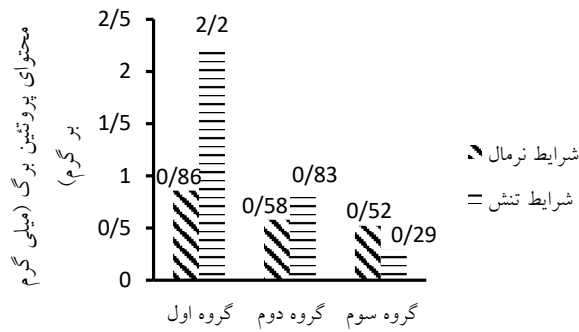


شکل ۵- مقایسه میانگین بین گروهی محتوای فنل و فلاونوئید در شرایط تنش خشکی و نرمال
 Figure 5. Comparison of intergroup mean of Phenol and flavonoid content in drought and normal stress conditions

فیزیولوژیک گیاه روغنی گلرنگ تحت شرایط کم‌آبی افزایش محتوای پروتئین با افزایش شدت تنش مشاهده شد (۴۷). پاسخ کلزا در برابر تنش‌های محیطی از جمله خشکی، گرما و ترکیبی از این دو نوع تنش بررسی شد و نتایج بیانگر افزایش در محتوای پروتئین در تمامی تیمارهای تنش بود (۱۴). در شرایط کم‌آبی انواع گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌گردد که در نتیجه تولید این ماده در غشا پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب اسید نوکلئیک و رنگدانه‌ها و تغییر انواع پروتئین ساختاری و کارکردی رخ می‌دهد و گیاه می‌تواند در برابر این تنش با تجمع پروتئین و افزایش پروتئین مقاومت نماید (۱۵).

پروتئین

طبق نتایج مقایسات میانگین بین گروه‌ها گروه مقاوم به تنش بیشترین محتوای پروتئین برگ را با ۲/۲ میلی‌گرم بر گرم در حالیکه گروه حساس کمترین میزان را ۰/۲۹ میلی‌گرم بر گرم داشتند (شکل ۶). با افزایش سطح تنش محتوای پروتئین افزایش یافت و بیشترین میزان این صفت را اکوتیپ‌های ۸، ۲ و ۱۹ با مقادیر ۲/۷۲، ۲/۶۱ و ۲/۵۸ در سطح آخر تنش (۴۴ روز بعد از قطع آبیاری) و کمترین محتوای پروتئین را اکوتیپ‌های ۱۴، ۱۱ و ۱۸ به ترتیب با مقادیر ۰/۳۱، ۰/۴۴، ۰/۴۵ و ۰/۴۶ در شرایط بدون تنش (شاهد) به خود اختصاص دادند. در بررسی پاسخ‌های



شکل ۶- مقایسه میانگین بین گروهی محتوای پروتئین برگ در شرایط تنش خشکی و نرمال
 Figure 6. Comparison of intergroup mean of Protein content in drought and normal stress conditions

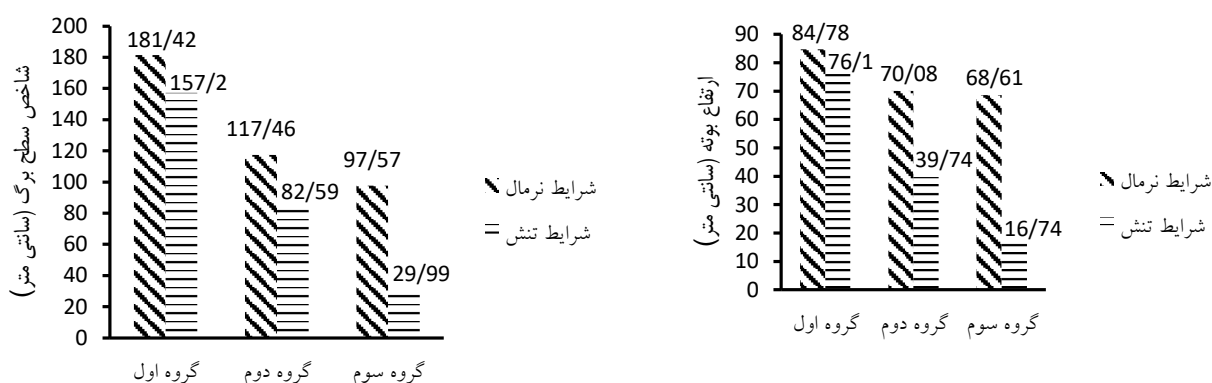
بیشترین میزان شاخص سطح برگ را با ۱۵۷/۲ سانتی‌متر و گروه حساس کمترین میزان شاخص سطح برگ را با ۲/۹۹ سانتی‌متر داشتند در واقع اختلاف بین اکوتیپ‌های مقاوم با حساس در شرایط تنش ۸۰ درصد بود (شکل ۷). میزان شاخص سطح برگ در اکوتیپ‌های مختلف متفاوت بود به طوری که اکوتیپ ۵ در شرایط بدون اعمال تنش با ۲۸۶/۵۶ سانتی‌متر بیشترین میزان شاخص سطح برگ را دارا بود در حالیکه کمترین میزان شاخص سطح برگ را اکوتیپ ۱۸ که جزء اکوتیپ‌های حساس بر اساس طبقه‌بندی صورت گرفته، قرار داشت با میزان سطح برگ ۶۵/۳۰ سانتی‌متر به خود اختصاص داد. تحت شرایط کم‌آبی رشد برگ‌ها به دلیل کاهش تورژسانس و در نتیجه توقف رشد سلولی کاهش پیدا می‌کند و از سوی دیگر، برگ‌ها زودتر از موعد پیر می‌گردند (۴۹). سطح برگ یک صفت حیاتی برای رشد گیاه می‌باشد. به‌طور کلی، گیاهان تمایل به کاهش سطح برگ در مواجهه با تنش خشکی دارند تا از طریق تعرق تلفات آب را به حداقل برسانند (۵۴). بررسی سازوکارهای مقاومت به تنش خشکی در گیاه کرچک نشان داد که با افزایش شدت تنش، گیاه سطح برگ را برای کاهش اثرات منفی تنش کاهش می‌دهد (۳۳). شاخص سطح برگ در گیاه کرچک با افزایش سطح تنش کاهش یافت (۳۱).

ارتفاع گیاه

مقایسه میانگین بین گروه‌ها در شرایط نرمال و تنش نشان داد کمترین میزان ارتفاع بوته به ترتیب در گروه اول (حساس) ۶۸/۶۱ و ۱۶/۷۴ و بیشترین میزان به ترتیب به گروه سوم (مقاوم) با ۸۴/۷۸ و ۷۶/۱ سانتی‌متر مشاهده شد؛ به عبارت دیگر می‌توان گفت که اختلاف بین گروه مقاوم و حساس در شرایط نرمال و تنش به ترتیب ۲۳/۵۶ و ۷۸ درصد بود (شکل ۷). اگرچه صفت ارتفاع بوته در کرچک اغلب به ژنوتیپ وابسته است اما شرایط آزمایش نیز بر میزان آن بی‌تأثیر نمی‌باشد (۲۳). در واقع تنش خشکی از طریق کاهش تقسیم سلولی و توسعه و دوام سطح برگ‌ها منجر به کاهش ارتفاع بوته می‌شود (۳۹). در بررسی که بر روی تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات رویشی در رقم محلی اصفهان کرچک انجام شد نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده تأثیر تنش خشکی بر صفت ارتفاع بوته بود به طوری که بیشترین میزان ارتفاع بوته به سطح یک تنش مربوط بود (۱). بررسی اکوتیپ‌های مختلف کرچک در شرایط تنش خشکی در اصفهان و شهرکرد نشان داد که ارتفاع گیاه با افزایش شدت تنش کاهش می‌یابد (۳۱).

شاخص سطح برگ

مقایسات میانگین در شرایط تنش نشان داد که گروه مقاوم



شکل ۷- مقایسه میانگین بین گروهی ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ در شرایط تنش خشکی و نرمال

Figure 7. Comparison of intergroup mean of Plant height and leaf area index in drought and normal stress conditions

صورت گرفته و با توجه به نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌گردد که از اعمال تیمارهای تنش در مراحل نموی مختلف به منظور بررسی دقیق‌تر جهت سنجش پاسخ گیاه کرچک به تنش کم‌آبی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان جهت تأمین بخشی از منابع مالی اجرای این پژوهش همکاری نمودند، نهایت سپاسگزاری را دارند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، محتوای پروتئین برگ و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بیشترین مقادیر فوق مربوط به تیمار ۴۴ روز بعد از قطع آبیاری شد در حالیکه اثر تنش خشکی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید و همچنین صفات موفولوژیک از قبیل ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ معنی‌داری بود و با افزایش شدت تنش کاهش معنی‌داری را نشان دادند و بیشترین مقادیر مربوط به تیمار شاهد بود. از آنجایی که تحقیقات اندکی بر روی گیاه کرچک

منابع

- Abasi Sadr, S., S. Sharafi and A. Hassanzadeh Ghorttapeh. 2018. Effect of drought stress and seed priming on some vegetative and reproductive traits of castor bean (*Ricinus Communis* L.) var Esfahan. *Journal of Crop Ecophysiology*, 12(1): 75-88 (In Persian).
- Akbari, V. and R. Jalili Marandi. 2014. Effect of Cycocel on Growth and Photosynthetic Pigments of Tow Olive Cultivars under Different Irrigation Intervals. *Journal of Horticultural Science*, 27(4): 460-469 (In Persian).
- Amarowicz, R., S. Weidner, L. Wójtowicz, M. Karmac, A. Kosinska and A. Rybarczyk. 2010. Influence of low-temperature stress on changes in the composition of grapevine leaf phenolic compounds and their antioxidant properties. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 4: 90-96.
- Arora, A., T.M. Byrem, M.G. Nair and G.M. Strasburg. 2000. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 373: 102-109.
- Baghizadeh, A., S. Mohammadinejad and M. Rahimi. 2019. Evaluation of Some Biochemical Characteristics of Some Red Bean Ecotypes under Drought Stress Conditions. *Journal of Crop Breeding*, 11(29): 55-64.
- Baker, N.R. and E. Rosenqvist. 2004. Application of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*. 55(403): 1607-1621.
- Beauchamp, C. and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Bettaieb, I., I. Hamrouni- Sellami, S. Bourgou, F. Limam, B. Marzouk. 2010. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologica Plantarum*, 33(4): 1103-1111.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*, 72: 248-254.
- Chakraborty, U. and B. Pradhan. 2012. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H₂O₂ accumulation, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24(2): 117-130.
- Chang, C., M. Yang., H. Wen and J. Chern. 2002 Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.

12. El-Amier, Y., K. Elhindi, S. El-Hendawy, S. Al-Rashed and A. Abd-ElGawad. 2019. Antioxidant system and biomolecules alteration in *Pisum sativum* under heavy metal stress and possible alleviation by 5-aminolevulinic acid. *Molecules*, 24(22): 4194.
13. Elavarthi, S. and B. Martin. 2010. Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. *Methods in Molecular Biology*, 639: 273-281.
14. Elferjani, R. and R. Soolanayakanahally. 2018. Canola responses to drought, heat, and combined stress: shared and specific effects on carbon assimilation, seed yield, and oil composition. *Frontiers in plant science*, 9: 1224.
15. Farooq, M., A. Wahid, N.S.M.A. Kobayashi, D.B.S.M.A. Fujita and S.M.A. Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, 153-188.
16. Gaafar, A.A., S.I. Ali, M.A. El-Shawadfy, Z.A. Salama, A. Şekara, C. Ulrichs, and M.T. Abdelhamid. 2020. Ascorbic acid induces the increase of secondary metabolites, antioxidant activity, growth, and productivity of the common bean under water stress conditions. *Plants*, 9(5): 627.
17. Hadi, H. and A. Kalantar. 2015. Effects of mycorrhizal symbiosis, application of super absorbant gel, glycine betain and sugar beet extract on physiological traits and seed yield of castor bean (*Ricinus communis* L.) in drought stress conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 17(3) (In Persian).
18. Hssanpour, L.K., J. Ahmadi, J. Daneshian and S. Hatami. 2015. Changes in chlorophyll, protein and antioxidant enzymes on durum wheat under drought stress. *Journal of Crop Breeding*, 7(15): 76-87 (In Persian).
19. Jaleel, C.A., K. Riadh, R. Gopi, P. Manivannan, J. Ines, H.J. Al-Juburi and R. Panneerselvam. 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3): 427-436.
20. Khademian, R., M. Ghorbani Nohooji and B. Asghari. 2019. Effect of jasmonic acid on physiological and phytochemical attributes and antioxidant enzymes activity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Water Deficient. *Journal of Medicinal plants*, 18(72): 122-134 (In Persian).
21. Khodabin, G., Z. Tahmasebi Sarvestani, A.H.S. Rad and S.A.M. ModarresSanavy. 2020. Effect of drought stress on certain morphological and physiological characteristics of a resistant and a sensitive canola cultivar. *Chemistry & biodiversity*, 17(2): 1900399 e.
22. Khosrowshahi, Z.T., S.Y. Slehi-Lisar, K. Ghassemi-Golezani and R. Motafakkerzad. 2018. Physiological Responses of safflower to exogenous putrescine under water deficit. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 14(3).
23. Koutroubas, S.D., D.K. Papakosta and A. Doitsinis. 1999. Adaptation and yielding ability of Castor plant (*Ricinus communis* L.) genotypes in a Mediterranean climate. *European Journal of Agronomy* 11: 227-237.
24. Kumar, M. 2016. Impact of climate change on crop yield and role of model for achieving food security. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(8): 1-14.
25. Kumar, P., V.N.N. Srivastava, U.S. Victor, D. Gangadhar Rao, A.V.M. Subba Rao, Y.S. Ramakrishna and B.V. Ramana Rao. 1996. Radiation and water use efficiencies of rainfed castor beans (*Ricinus communis* L.) in relation to different weather. *Agricultural and Forest Meteorology*, 81: 241-253.
26. Lichtenthaler, H.K. 1987. "Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the autumnal chlorophyll breakdown", *Journal of Plant Physiology*, 131(1-2): 101-110.
27. Meda, A., C.E. Lamien., M. Romito., J. Millogo and O.G. Nacoulma. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91(3): 571-577.
28. Monakhova, O.F. and I.I. Chernyadev. 2002. Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Appl. Environ. Microbiol*, 38: 373-380.
29. Munne-Bosch, S. and J. Penuelas. 2003. Photo and antioxidant protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under Mediterranean field conditions. *Ann. Bot.*, 92: 385-391.
30. Nikneshan, P. and A. Tadayyon. 2016. Physiological responses of castor ecotypes (*Ricinus communis* L.) to drought stress. *Journal of Plant Process and Function*, 5(17): 121-132 (In Persian).
31. Nikneshan, P., A. Tadayyon, M. Rafiollahseini and B. Bahraininejad. 2015. Response of different castor ecotypes to drought stress under Isfahan and Shahrekord climates. *Journal of Crops Improvement*, 17(4): 1015-1033 (In Persian).
32. Oliviera-Neto, C.F., A.K. Silva-Lobato, M.C. Goncalves-Vidigal, R.C.L. Costa R, B.G. Santos.Filho, G.A.R. Alves, W.J.M. Silva-Maia, F.J.R. Cruz, H.K.B. Neres and M.J. Santos Lopes. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Science and Technology*, 7: 588-593.
33. Papazoglou, E.G., E. Alexopoulou, G.K. Papadopoulos and G. Economou-Antonaka. 2020. Tolerance to Drought and Water Stress Resistance Mechanism of Castor Bean. *Agronomy*, 10(10): 1580.
34. Patane, C., S.L. Cosentino, S.A. Corinzia, G. Testa, O. Sortino and D. Scordia. 2019. Photothermal zoning of castor (*Ricinus communis* L.) growing season in the semi-arid Mediterranean area. *Industrial Crops and Products*, 142: 111837.
35. Perry, B.A. 1943. Chromosome number and phylogenetic relationships in the Euphorbiaceae. *American Journal of Botany*, 527-543.

36. Rahimizadeh, M., D. Habibi, H. Madani, G. Mohammadi, A. Mehraban and A. Sabet. 2007. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Helia*, 30: 167-174.
37. Salihu, B.Z., O.A. Falusi, A.O. Adepoju, I.W. Arolu., O.Y. Daudu., D.R. Abejide and Ch.O .Oke. 2019. Assessment of Genetic Diversity of Promising Castor Been (*Ricinus communis* L.) Genotypes in Nigeria. *Notula Scientia Biologicae*, 11(3): 467-474.
38. Severino, L.S. and D.L. Auld. 2013. Seed yield and yield components of castor influenced by irrigation. *Industrial Crops and Products* 49: 52-60.
39. Seyed Ahmadi, A., A. Bakhshandeh and M. Gharineh. 2015. Evaluation Physiological Characteristics and Grain Yield Canola Cultivars under end Seasonal Drought Stress in Weather Condition of Ahvaz. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(1): 71-80 (In Persian).
40. Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel, P. Manivannan, R. Panneerselvam and M.A. Shao. 2009. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants biotechnologically and sustainably improving agriculture and the Eco environment in arid regions of the globe, *Crit. Biotechnol*, 29: 131-151.
41. Sica, P., A. Galvao, F. Scariolo, C. Maucieri, C. Nicoletto, C. Pilon and D. Franklin. 2021. Effects of drought on yield and nutraceutical properties of beans (*Phaseolus* spp.) traditionally cultivated in Veneto, Italy. *Horticulturae*, 7(2): 17.
42. Singh, A.S., S. Kumari, A.R. Modi, B.B. Gajera, S. Narayanan and N. Kumar. 2015. Role of conventional and biotechnological approaches in genetic improvement of castor (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products*, 74: 55-62.
43. Sirousmehr, A., J. Bardel and S. Mohammadi. 2015. Changes of germination properties, photosynthetic pigments and anti-oxidant enzymes activity of safflower as affected by drought and salinity stresses. *Journal of Crop Ecophysiology*, 8(32(4)): 517-534 (In Persian).
44. Song, X., G. Zhou., L. Shi., I. Ahmad., X. Shi., G. Zhu and X. Jiao. 2021. Comparative effects of salinity and drought on seed germination, seedling growth, photosynthetic productivity, pigments content and antioxidant enzymes of castor bean (*Ricinus communis*). *Crop and Pasture Science*, 72(7): 541-550.
45. Taiz, E. and L. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*, Third edition. Jhon Wiley. New York.
46. Teotónio, C., M. Rodríguez., P. Roebeling and P. Fortes. 2020. Water competition through the 'water-energy' nexus: Assessing the economic impacts of climate change in a Mediterranean context. *Energy Economics*, 85: 104539.
47. Toupchi Khosrowshahi, Z., S.Y. Salehi-Lisar, K. Ghassemi-Golezani and R. Motafakkerazad. 2019. Effect of polyamines on antioxidative responses of safflower (*Carthamus tinctorius*) under drought stress. *Journal of Plant Production Research*, 26(2): 157-171.
48. Urban, M.O., J. Vasek, M. Klíma, J. Krtkov_a, K. Kosova, I.T. Pr_a_sil, P. Vítamvas. 2017. Proteomic and physiological approach reveals drought-induced changes in rapeseeds: water-saver and water-spender strategy. *Journal of Proteomics*, 152: 188-205.
49. Wright, P.R., J.M. Morgan., R.S. Jessop and A. Cass. 1995. Comparative adaptation of canola (*Brassica napus*) and Indian mustard (*B. juncea*) to soil water deficits: yield and yield components. *Field Crops Research*, 42(1): 1-13.
50. Xiao, X., X. Xu and F. Yang. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations. *Silva Fennica*, 42(5): 705-719.
51. Yan, M. 2015. Seed priming stimulate germination and early seedling growth of Chinese cabbage under drought stress. *South African Journal of Botany*, 99: 88-92.
52. Yeboah, A., J. Lu., T. Yang, Y. Shi, H. Amoanimaa-Dede, K.G.A. Boateng and X. Yin. 2020. Assessment of castor plant (*Ricinus communis* L.) tolerance to heavy metal stress-a review. *Phyton*, 89(3): 453.
53. Zafari, M., A. Ebadi, S. Jahanbakhsh and M. Sedghi. 2020. Safflower (*Carthamus tinctorius*) biochemical properties, yield and oil content affected by 24-epibrassinosteroid and genotype under drought stress. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(22): 6040-6047.
54. Zhao, M., X. Zhao, Y. Wu and L. Zhang. 2007. Enhanced sensitivity to oxidative stress in an *Arabidopsis* nitric oxide synthase mutant. *Plant Physiology*, 164: 737-745.
55. Zhou, H., G. Zhou, Q. He, L. Zhou, Y. Ji and M. Zhou. 2020. Environmental explanation of maize specific leaf area under varying water stress regimes. *Environmental and Experimental Botany*, 171: 103932.
56. Zhu, J., D.J. Cai, J. Wang, Y. Cao, J. Wen, S. He and S. Zhang. 2021. Physiological and anatomical changes in two rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes under drought stress conditions. *Oil Crop Science*, 6(2): 97-104.

Evaluation of Photosynthetic Pigment, Antioxidant and Non-Antioxidant Activity and some Morphological Traits Changes under Drought Stress in Castor Plant (*Ricinus communis* L.)

Sara Sharifi Soltani¹, Gholam Ali Ranjbar², Seyed Kamal Kazemitabar¹,
Ali Pakdin Parizi³ and Hamid Najafi Zarini¹

1- Department of Plant Breeding and Plant Biotechnology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Genetics and agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, (Corresponding author: ali.ranjbar@gmail.com)

3- Genetics and agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: 1 January, 2022 Accepted: 23 May, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Drought stress is a major environmental stress that effects on plants Therefore, it is necessary to know the mechanism that plant shows in encounter of stress.

Materials and Methods: In order to evaluate the effect of drought stress on physiological and biochemical traits of castor plant, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 1397-8. The first factor was 22 castor ecotypes and the second factor was drought stress with 5 levels, full irrigation, four levels (irrigation was cuted at the primary of spike growth) (11, 22, 33, 44 days after Irrigation cut off). In this study, traits including superoxide dismutase (SOD), chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, phenol, flavonoids and protein content, as well as morphological traits such as plant height and leaf area index were measured.

Results: The results showed that activity of superoxide dismutase (SOD), the amount of protein, phenol and flavonoids increased significantly with increasing the intensity of stress while the amount of photosynthetic pigments and carotenoids as well as plant height and leaf area index showed a significant decrease with increasing level of stress. According to the results of cluster analysis under drought stress, castor ecotypes were divided into three clusters. Differences between ecotypes in the resistant group compared to sensitive ecotypes under drought stress in superoxide dismutase (SOD), chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, phenol, flavonoids, protein content, plant height and index Leaf area were 83.41, 83.33, 85.57, 84.21, 82.08, 88.7, 86.44, 86.81, 78 and 80.9%, respectively. According to the results, ecotypes 2, 3, 5, 8 and 19 were introduced as resistant ecotypes for future breeding Programs.

Conclusion: In general, it seems that resistant ecotypes due to the severity of damage less in terms of growth indices and further increase in the activity of superoxide dismutase (SOD) and accumulation of proteins, phenols and flavonoids, more resistance in Showed against drought stress.

Keywords: Abiotic Stress, Carotenoid, Leaf Protein, Phenol and Flavonoid Content, Superoxide Dismutase