

Shiraz University

**دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب**

**بخش اگرواکولوژی**

**طرح پیشنهادی پایان نامه کارشناسی ارشد**

**عنوان**

**بررسی تنوع اکوتیپ‌های مختلف گلرنگ وحشی** در مناطق جنوبی استان فارس

**The study of ecotype diversity of wild safflower (*Carthamus oxyacantha*) in southern regions of Fars province**

**توسط**

وحید نجفی

**استاد راهنما**

دکتر علی بهپوری

**اساتید مشاور**

دکتر مهدی نجفی قیری

دکتر احسان بیژن زاده

زمستان 1401

**فهرست مطالب**

1 مقدمه .......................................................................................................................................................................4

2 هدف پژوهش .........................................................................................................................................................6

3 مروری بر پژوهش‌های پیشین ............................................................................................................................7

4 مواد و روش‌ها ........................................................................................................................................................9

4-1 خصوصیات گیاه گلرنگ ................................................................................................................................10

4-2 صفات مورد اندازه‌گیری در گلرنگ وحشی ..............................................................................................10

4-3 اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک .....................................................................................................................11

4-4 اندازه‌گیری عملکرد دانه ...............................................................................................................................12

4-5 اندازه‌گیری ارتفاع بوته و تعداد شاخه فرعی در بوته و شاخص سطح ویژه برگ .......................12

4-6 اندازه‌گیری طبق در بوته ........................................................................................................................12

4-7 اندازه‌گیری دانه در طبق ........................................................................................................................13

4-8 اندازه‌گیری وزن صد دانه و شاخص برداشت .....................................................................................13

4-9 اندازه‌گیری قطر ساقه .............................................................................................................................13

4-10 میزان درصد روغن دانه و اندازه‌گیری پروتیین هر دانه ...............................................................13

4-11 سنجش میزان پرولین ........................................................................................................................14

4-12 اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ ...............................................................................................15

13-4 اندازه‌گیری رنگ دانه.........................................................................................................................16

5- تجزیه آماری...............................................................................................................................................17

منابع مورد استفاده...........................................................................................................................................17

**1- مقدمه**

پوشش گیاهی مهم‌ترین بخش یک اکوسیستم است. جمع آوری اطلاعات گیاهان، به‌عنوان یکی از منابع تجدید شونده در هر منطقه‌ای موجب شناخت توانایی‌های بالقوه و بالفعل پوشش گیاهی منطقه می‌گردد (سنندجی و مظفریان، 2010). نوع و میزان پوشش گیاهی به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی بوده و نقش مهمی در پراکنش، شکل‌گیری، توسعه و پایداری جوامع گیاهی دارند. به‌طوری‌که هر گونه گیاهی در محدوده جغرافیایی خاصی پراکنش یافته و یک یا چند عامل محیطی بیشترین اثر را در استقرار آن دارد (هولچک و همکاران، 2004).

گلرنگ از جنس کارتاموس (*Carthamus*) متعلق به خانواده آستراسه(Asteraceae) گیاهی دانه روغنی است که احتمالاً از نواحی ایران، ترکیه و هندوستان منشأ گرفته است، به‌طوری‌که کشور ما از لحاظ ذخایر ژنتیکی این گیاه، یکی از غنی‌ترین مناطق جهان به شمار می‌رود ( زینعلی،1999). در جنس گلرنگ تقريباً 25 گونه و زيرگونه وجود دارد ( دیتریچ و همکاران، 1979). در ایران دو گونه گلرنک وحشی به نام‌های *Carthamus Oxycantha* و*Carthamus lanatus* بيشترين تنوع، پراكنش و سازگاري را با شرايط اقليمي ايران دارند ( راشد و همکاران، 2001). گلرنگ وحشی با نام علمی *Carthamus Oxyacantha* و نام انگلیسی wild safflower یا Jeweled Distaff Thistle از تیره کاسنی (Asteraceae) می‌باشد. گیاهی است یكساله و ایستا، دو لپه و پهن برگ، تابستانه با برگ‌های خاردار که ارتفاع آن گاهی به بیش از یک متر می‌رسد. یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز در میان مزارع گندم، پنبه، حبوبات، نیشكر، سیر، پیاز و باغات می‌باشد (نادری و همکاران، 1384). گیاهی مقاوم به خشکی، شوری و شرایط نامساعد محیطی است و در مناطقی با حاصلخیزی کم نیز می‌توان کاشت. ساقه اصلی در گلرنگ ایستاده، خشبی، استوانه‌ای و دارای خطوط باریک طولی، توپر، بدون پرز یا پرزدار و به رنگ خاکستری روشن تا سفید و یا مایل به زرد است. برگ‌های گلرنگ بیضی شکل، بدون دم‌برگ و دندانه‌دار است که براساس نوع واریته ممکن است صاف و یا خاردار باشند. جام گل‌های گلرنگ موسوم به گلچه و پیوسته و لوله مانند است. هر یک از ساقه‌های اصلی و فرعی در انتهای خود به یک گل آذین منتهی می‌شود. گل آذین گلرنگ طبق نامیده می‌شود و از نوع کلاپرک است. بذر گلرنگ در حقیقت میوه آن و از نوع آکنه یا فندقه است. پوسته بذر گلرنگ بیشتر به رنگ کرم و کرم مایل به سفید است، ولی انواع راه راه آن با خطوط تیره و روشن، خال‌دار، قهوه‌ای سیاه و خاکستری نیز یافت می‌شود.

با وجود کشت گیاه گلرنگ در نواحی خشک و نیمه‌خشک مانند هند، مکزيک، آمريکا و استرالیا، کل تولید روغن از اين گیاه تنها 5 درصد کل روغن های گیاهی است (سالونخی و همکاران، 1991). خشکی به‌عنوان شایع‌ترین عامل تنش، تولید محصولات کشاورزي را در حدود 25 درصد از اراضی دنیا محدود کرده و عامل اصلی کاهش عملکرد به شمار می‌آید. گونه‌هاي وحشی و خویشاوندان گیاهان زراعی سازگاري وسیعی به شرایط آب و هوایی مختلف داشته و منبع مهمی از ژن‌هاي مطلوب برای بهبود بسیاري از صفات مهم نظیر تحمل به خشکی و شوري و افزایش عملکرد محسوب می‌شوند (هاجر و همکاران، 2007).

*Carthamous oxycantha* در صنعت داروسازی برای آماده‌سازی داروها برای درمان زخم، خارش و به عنوان عامل تسکین درد به ویژه در صورت ضربه‌های تورمی استفاده می‌شود. داروهای به دست آمده از گونه‌های دیگر جنس *Carthamus* به طور سنتی برای بسیاری از مشکلات سلامتی استفاده می‌شود (حسن و همکاران، 2010).

تنوع ژنتيكي پايه و اساس گزينش فنوتيپي، ژنوتيپي و اصلاح كمي و كيفي گونه‌هاي گياهي است (فالکونرو همکاران، 1996). بررسي تنوع ژنتيكي در گونه‌هاي زراعي و وحشي از جمله روش هایی است كه براي شناسايي ظرفيت ژنتيكي صفات مرتبط با اهداف اصلاحي و حفاظت از منابع ژنتيكي، توسط متخصصين به‌نژادی گیاهی انجام می‌گیرد (مک فرسان و همکاران، 2004).

گونه‌های وحشی جنس *Carthamus* دارای مجموعه غنی از ژن‌های مقاومت برای مقابله با تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده می‌باشند که لازم است مورد استفاده قرار گیرند. بررسی‌ها نشان داده است که گونه‌های وحشی گلرنگ دارای چندین ژن مطلوب مثل تحمل به خشکی، تحمل به شکستگی، فقدان خواب بذر، مقاومت به مگس گلرنگ و بیماری‌های زنگ، لکه برگی Ramularia و سفیدک پودری و توکوفرول بالا می‌باشند (سوجاتا، 2008). گزارش شده است که گیاهان از جنس *Carthamus* دارای مخلوطی از گلیسیریدها هستند که از اسیدهای لینولئیک و اولئیک تشکیل شده است و غلظت این ترکیبات در گونه‌های مختلف متفاوت است (سانفلیشنا و همکاران، 1982). مطالعات زیادی بر روی گل و بذر گلرنگ وحشی انجام شده که خواص فیتوشیمیایی و بیولوژیکی آنها مورد آزمایش قرار گرفته و آزمایش‌ها نشان داده که مواد تشکیل دهنده و خواص دارویی مشابه در گل و بذر گیاه وجود دارد (اختر و همکاران، 2015، بوخش و همکاران، 2014).

**2- هدف پژوهش:**

هدف از انجام این تحقیق بررسی تنوع اکوتیپ‌های مختلف گلرنگ وحشی در مناطق جنوب استان فارس و مطالعه وزن بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، تعداد طبق در بوته، تعداد دانه در طبق، وزن صد دانه، ارتفاع بوته، قطر ساقه میزان درصد روغن دانه، میزان غلظت پرولین، انتخاب بهترین ژنوتیپ از بین ژنوتیپ‌هاي مهم در منطقه در گیاه گلرنگ وحشی (*Carthamus Oxycantha*) می‌باشد.

**3- مروری بر پژوهش‌های پیشین:**

کوهنورد و همکاران (2012) در گزارشی نشان دادند گلرنگ وحشی از گیاهان روغنی و یکی از قدیمی‌ترین محصولات زراعی به شمار می‌رود که کشت آن در ایران قدمت طولانی دارد و روغن قابل استخراج از دانه آن 25 تا 35 درصد می‌باشد.

شفیعی کوجی و همکاران (2019) در پژوهشی نشان دادند که گلرنگ وحشی در شـرایط تـنش خشکی، بالاترین مقدار بازده ژنتیکی براي صفت تعداد طبق در بوته، در جمعیـت *Tintorius* *Oxiacanthus* که حاصـل از تلاقـی دو نوع از گونه گلرنگ وحشی به نام‌های (*Carthamus Oxyacanthus × Carthamus Tinctorius*) می‌باشد و این نتایج بدست آمده نشان داد که این صفت می‌توانـد معیـار مفیدي براي بهبود ژنتیکی این جمعیت در نظـر گرفتـه شـود و همچنین در مورد جمعیت Palaestinus Tinctorius که حاصل از تلاقـی دو گونه (Carthamus *Tinctorius ×Carthamus palaestinus*)می‌باشد، بازده ژنتیکی براي عملکرد دانـه بـه انـدازه دو جمعیــت تینکتوریس اگزاکانتوس نبــوده است و به‌نظــر مــی‌رســد کــه *Carthamus Oxyacanthus*  احتمالا باعث تنوع بیشتري در نتایج حاصل از تلاقی بین گونه‌های در مقایسه با دو والد دیگر می شود. با در نظر گرفتن بازده ژنتیکی در جمعیت‌هاي حاصل از تلاقی بین گونه‌های جنس کارتاموس، ترکیب روش گزینش تـک بوتـه (SPS ) با شاخص تحمل تنش (STI )در شناسایی ژنوتیپ هاي متحمـل بـه تـنش و همچنـین در شناسـایی صـفات مـرتبط بـا عملکرد براي هر جمیعت، کارآمد بود. شیروند و همکاران (1393) در تحقیقی نشان داداند که گونه گلرنگ وحشـی*Carthamus Oxyacanthus*  از پایـداري عمـومی بالایی تحت شرایط تنش خشکی برخوردار است و از این رو می‌تواند به عنوان منبع ژنی مفیدي براي انتقال ژن‌هاي مقاومت به خشـکی نسبت بـه گونه اهلی باشد. بر اساس نتـایج برخی تحقیقات نشـان داده شد که خشکی بر برخی صفات و ویژگی‌های گیاه گلرنگ وحشی اثرگذار است. از جمله اجزاء عملکرد گیاه گلرنگ وحشی که تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند عبارتند از تعداد طبق در بوته و تعداد دانه در طبق. تنش خشکی تأثیری بر روی وزن هزار دانه ندارد و کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی ناشی از کـاهش تعـداد طبـق در بوتـه و تعـداد دانـه در طبـق می‌باشد (عظیم‌زاده و همکاران، 2010­­­، ابل و همکاران، 1976). در تحقیقی نشان داده شد که ارتفاع گیاه به عنوان یک صفت مورفولوژیک مهم در گلرنگ وحشی با صفات اجزای عملکرد گیاه ارتباط دارد (سلطانی و همکاران، 2020). در پژوهشی دیگر گزارش شده که تنش‌هاي آبي با محدود كردن توسعه و گسترش سلولي و كاهش تورژسانس سلولي در گلرنگ وحشی سبب كاهش ارتفاع بوته در گیاه می‌گردد (اسکندری و کاظمی، 2019). برخی پژوهشگران نشان دادند که در گیاه گلرنگ وحشی که تحت کشت زراعی قرار گرفته بود نشان داده شد که مهم‌ترين صفت در برنامه‌هاي به‌نژادی، عملکرد دانه بوده و صفاتي كه در ارتباط با عملكرد هستند حائز اهميت مي‌باشند و یک رابطه همبستگي مثبت و معني‌دار بین عملکرد دانه با تعداد طبق در بوته وجود دارد در حالي كه همبستگي عملكرد دانه با صفات تعداد روز تا شروع گلدهي،50 درصد گلدهي و رسيدگي منفي می‌باشد و لذا با گزينش براي افزايش صفت تعداد طبق در بوته و كاهش تعداد روز 50 درصد گلدهي و رسيدگي مي‌توان عملكرد دانه را افزايش داد، همچنین افزايش تعداد طبق در بوته ، تعداد دانه در طبق ، وزن صد دانه و تعداد شاخه فرعي در گياه مي‌تواند به‌عنوان شاخص‌هاي گزينش براي افزايش عملكرد دانه گلرنگ وحشی مد نظر قرار گيرد (قدرتی، 1376؛ امینی، 2008). ابراهیمی و همکاران (2017) در تحقیقاتی نشان دادند که در گیاه گلرنگ وحشی، صفت روز تا گلدهی در مناطق خشک صفت بسیار مهمی است زیرا گلدهی در شرایط تنش باعث کاهش تعداد گل‌ها و درصد گل‌هاي تلقیح شده می‌شود و زودگل‌دهی نیز یکی دیگر از سازوکارهاي فرار از تنش خشکی در گلرنگ و سایر گیاهان است و محققان متعددي به گل‌دهی زود هنگام براي مقاومت به تنش خشکی توجه ویژه نشان داده‌اند. در پژوهشی نشان داده شد که تنش خشکی باعث کاهش ضـرایب تنـوع فنـوتیپی و ژنوتیپی و وراثت‌پذیري اکثر صفات در گلرنک وحشی می‌شود (مصطفیایی و همکاران، 2014). اسپناهی و همکاران (2019) در تحقیقات خود نشان دادند که تجمع پرولین یکی از اولین واکنش‌های گیاه گلرنگ وحشی به تنش خشکی است تا میزان آسیب به سلول‌های گیاه را کاهش دهد و تجمع پرولین در گیاه تحت تنش خشکی گاهی با تحمل گیاه به تنش همبستگی دارد. در مطالعاتی نشان داده شد که تفاوت ژنتیکی کم بین ژنوتیپ‌های گلرنگ وحشی و قرار گرفتن آنها در یک گروه می‌تواند ناشی از نزدیک بودن زمان پیدایش، مبدأ جغرافیایی یکسان، قرابت‌های ژنتیکی، خویشاوندی‌های احتمالی و داشتن اجداد مشترک باشد (گلکار و همکاران، 2011). در پژوهش‌های مختلف عدم تطابق فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی در گیاه گلرنگ وحشی تایید شده است در صورتی که تفاوت چـشمگیري بـراي اکثـر ارقام گلرنگ ایرانی با ارقام گلرنگ خارجی وجود دارد. همچنـین عـدم تطابق بین فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیـایی در سـایر مطالعات دیگر نیز تائید شده است (باقری، 1377؛ یزدی صمدی، 1991؛ امینی و همکاران، 2007؛ جانسون و همکاران، 2007؛ خان و همکاران، 2009؛ ماهاسی و همکاران، 2009؛ یانگ و همکاران، 2009). در پژوهش‌هایی گزارش شده است که دانه‌های گلرنگ حاوی 30 تا 40 درصد روغن، 15 تا 20 درصد پروتئین و 35 تا 45 درصد پوست دانه می‌باشد (شهبازی و همکاران، 1386؛ افتخار و همکاران، 2016). لیو و همکاران (2016) در تحقیقی نشان دادند که روغن گلرنگ دارای دو اسید چرب اشباع نشده اصلی (اسید اولئیک و اسید لینوئیک) می‌باشد که 90 درصد از کل اسیدهای چرب روغن گلرنگ را تشکیل می‌دهد و 10 درصد باقیمانده شامل اسیدهای چرب اشباع، مانند پالمیتیک و اسید استئاریک می باشد که در روغن گلرنگ حدود 6 تا 8 درصد اسید پالمیتیک، 2 تا 3 درصد اسید استئاریک، 16 تا 20 درصد اسید اولئیک و 71 تا 75 درصد اسید لینوئیک می‌باشد (لیو و همکاران، 2016).

**غلامی و همکاران (1397) در تحقیقی به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی گلرنگ، 64 ژنوتیپ گلرنگ توسط 20 صفت زراعی و موفولوژیکی را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که تعداد دانه چروکیده طبق فرعی داراي بیشترین ضریب تغییرات و قطر طبق فرعی داراي کمترین ضریب تغییرات بود. همچنین صفات وزن دانه طبق فرعی، تعداد شاخه فرعی، تعداد طبق شاخه فرعی، قطر طبق اصلی، عملکرد تک بوته، وزن هزار دانه و عملکرد دانه نیز داراي ضریب تغییرات نسبتاً بالایی بودند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌اي با استفاده از صفات مورفولوژیکی و بر اساس فاصله اقلیدسی و به روش وارد نشان داد 5 خوشه مختلف وجود داشت. ژنوتیپ‌هاي خوشه سوم از نظر صفات مهمی مثل وزن هزاردانه، عملکرد دانه و محتواي روغن برتر بودند در حالی که خوشه‌هاي دیگر از نظر تعداد طبق و شاخص برداشت حایز اهمیت بودند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورفولوژیک و زراعی نتوانست ژنوتیپ‌هاي گلرنگ را از لحاظ منشأ جغرافیایی تفکیک نماید و ژنوتیپ‌هاي ایرانی در بیشتر خوشه‌ها حضور داشتند که این امر نشان دهنده تنوع بالاي ژنوتیپ‌هاي ایرانی است. لذا بر اساس عدم تطابق تنوع ژنتیکی و جغرافیایی بدست آمده در این مطالعه به نظر می‌رسد که انتخاب ژنوتیپ‌ها جهت اجراي برنامه‌هاي اصلاحی در گلرنگ بهتر است با استفاده از تنوع ژنتیکی صورت گرفته و از توده‌هاي بومی گلرنگ زراعی ایران به عنوان یک منبع غنی ژنتیکی در برنامههاي به‌نژادی گلرنگ استفاده شود (غلامی و همکاران، 1397).**

موسوی اجاق و همکاران (2019) در پژوهشی گزارش کرده‌اند که تنوع کافی در میان ژنوتیپ‌های گلرنگ از نظر صفات تعداد روز تا ساقه‌دهی، گلدهی و رسیدگی و رنگ گل، تعداد شاخه اصلی، ارتفاع، خار، تعداد غوزه در بوته، تعداد دانه در غوزه، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و درصد روغن دانه مشاهده شد.

**4- مواد و روش‌ها**

به منظور بررسی واکنش صفات گیاهی ژنوتیپ‌های گلرنگ وحشی در شرایط تنش کمبود آب، آزمایش با جمع‌آوری گلرنگ‌های وحشی در مناطق مختلف استان فارس که توسط سامانه موقعیت‌یاب جهانی (GPS) ثبت خواهد شد انجام می‌شود. این تحقیق در سال 1400 -1401 اجرا خواهد شد.

**4-1 صفات مورد اندازه‌گیری درجمع آوری نمونه‌ها**

صفات مورفولوژيك مـورد ارزيـابي شـامل ارتفـاع بوته (سانتي‌متر)، طول ساقه اصلي (سـانتي‌متـر)، تعـداد شـاخه‌هـاي فرعـي، تعـداد طبق در بوته، تعـداد دانـه در طبق، تعداد دانه در بوته، وزن 100 دانه، عملكرد دانه (گرم در متر مربـع)، عملكـرد بيولوژيــك (گــرم در متــرمربــع) و شــاخص برداشــت (درصــد) ارزیابی خواهد شد. پس از جمع آوری گیاه صفات زیر مورد سنجش و ارزیابی قرار خواهد گرفت:

* عملکرد دانه در بوته
* عملکرد بیولوژیک
* شاخص برداشت
* تعداد شاخه فرعی در بوته و شاخص سطح ویژه برگ
* تعداد طبق در بوته
* تعداد دانه در طبق
* وزن صد دانه و شاخص برداشت
* ارتفاع بوته
* قطر ساقه
* میزان درصد روغن در دانه و اندازه‌گیری پروتئین دانه
* میزان پرولین
* رنگ دانه

**4-2 اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک**

به منظور اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک، پس از رشد کامل گیاه، یک متر مربع از پوشش گیاهی را در نظر گرفته و تمامی بوته‌ها را به‌وسیله قیچی از بالای سطح خاک قطع کرده و سپس تمامی بوته‌ها را وزن کرده و در مساحت کل ضرب می‌کنیم و عملکرد بیولوژیک به دست خواهد آمد.

**4-3 اندازه‌گیری عملکرد دانه**

به منظور اندازه‌گیری عملکرد دانه، پس از رشد کامل گیاه، یک متر مربع از پوشش گیاهی را در نظر گرفته و تمامی طبق های بوته‌ها را جدا کرده و سپس تمامی دانه‌ها را از طبق ها جدا کرده و دانه‌های جمع آوری شده را وزن کرده و در مساحت کل ضرب می‌کنیم و عملکرد دانه به دست خواهد آمد.

**4- 4 اندازه‌گیری ارتفاع بوته و تعداد شاخه فرعی در بوته و شاخص ویژه برگ**

به منظور تعیین ارتفاع، با رسیدن محصول به مرحله بلوغ فیزیولوژیکی (گلدهی کامل)، 3 بوته از گیاه گلرنگ وحشی به طور تصادفی انتخاب و ارتفاع آنها از سطح خاک با استفاده از متر استاندارد اندازه‌گیری می‌شود.

برای اندازه‌گیری تعداد شاخه فرعی در هر بوته، تعداد 3 بوته گلرنگ وحشی به طور تصادفی انتخاب و تعداد شاخه فرعی آن شمارش و میانگین آنها به عنوان تعداد شاخه فرعی در بوته ثبت می‌گردد. تعداد 5 بوته گلرنگ به طور تصادفی انتخاب و تعداد شاخه فرعی آن شمارش و میانگین آنها به عنوان تعداد شاخه فرعی در بوته ثبت می‌گردد. جهت اندازه‌گیري عملکرد تک بوته هر گیاه گلرنگ، ابتدا تعداد طبق در بوته هر گیاه گلرنگ با موقعیت جغرافیایی مختلف شمارش می‌گردد و سپس تعداد دانه در طبق اندازه‌گیري می‌شود و با حاصل ضرب تعداد دانه در طبق در تعداد طبق، عملکرد تک بوته بر حسب گرم محاسبه می‌شود. جهت اندازه‌گیري قطر طبق از کولیس استفاده می‌شود. شاخص سطح برگ توسط دستگاه Leaf area meter (Hayashi Denkoh Model AAM-7) اندازه‌گیری خواهد شد.

**4-5 اندازه‌گیری طبق در بوته**

به منظور اندازه‌گیری طبق در بوته، 3 بوته گیاه گلرنگ را به صورت تصادفی انتخاب کرده و تعداد طبق در هر بوته را شمارش کرده و میانگین گرفته می‌شود.

**4-6 اندازه‌گیری دانه در طبق**

اندازه‌گیری دانه در طبق به این روش می‌باشد: ابتدا 3 بوته به صورت تصادفی انتخاب می‌گردد و در هر بوته دانه‌ها را از طبق جدا کرده و تعداد طبق هم در هر بوته شمارش می‌گردد. تعداد دانه‌های کل را شمارش کرده و در تعداد طبق تقسیم کرده و میانگین اندازه‌گیری دانه در طبق به دست خواهد آمد.

**4-7 وزن صد دانه** و شاخص برداشت

وزن صد دانه نیز به عنوان یکی از اجزای عملکرد بعد از عملیات برداشت با 3 نمونه تصادفی گیاه گلرنگ وحشی در هر متر مربع در هر موقعیت جغرافیایی ثبت شده که گیاه جمع آوری گردیده محاسبه می‌شود.شاخص برداشت از تقسیم عملکرد دانه در هکتار بر عملکرد بیولوژیک در هکتار برای هر متر مربع محاسبه خواهد شد.

**4-8 اندازه‌گیری قطر ساقه:**

قطر ساقه اصلی هر بوته گیاه گلرنگ وحشی که در هر منطقه جمع آوری شده را با استفاده از کولیس اندازه‌گیری می‌کنیم.

**4-9 درصد روغن دانه و اندازه‌گیری پروتئین دانه:**

درصد روغن بذر با استفاده از دستگاه سوکسله (SCMS No Model 6H-F100)تعیین می‌شود. به این ترتیب که مقدار 5 گرم از دانه‌های گلرنگ آسیاب شده را به همراه کاغذ صافی وزن می‌کنیم، در داخل قسمت استخراج دستگاه قرار داده می‌شود و حدود250 میلی‌لیتر حلال ان- هگزان به آن اضافه میگردد. عمل عصاره گیری نمونه‌ها به مدت 4 الی 5 ساعت ادامه می‌یابد. چرخه تبخیر و میعان طی مدت روشن بودن دستگاه باعث گرفتن چربی کامل نمونه‌ها می‌شود. بعد از گرفتن چربی، نمونه‌ها خارج و به مدت 24 ساعت در دمای 75 درجه سلسیوس در آون قرار داده می‌شود. نمونه‌ها بعد از خشک شدن دوباره وزن می‌شوند و در نهایت درصد روغن با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

درصد روغن نمونه= b- c/b-a ×100

a: وزن نمونه بدون کاغذ صافی

b: وزن کاغذ و نمونه حاوی روغن

c: وزن کاغذ و نمونه بدون روغن

میزان سنجش کلروفیل برگ با دستگاه (SPAD-502) انجام می‌شود.

براي محاسبه درصد پروتئین دانه، ابتدا درصد نیتروژن دانه به روش کجلدال اندازه‌گیري و با ضرب آن در عدد 25/6، درصد پروتئین دانه‌ها محاسبه می‌گردد (سالوونانن و کویویستوینن، 1996).

**4-10 سنجش میزان پرولین**

میزان پرولین برگ به روش بیتز و همکاران اندازه‌گیری می‌شود (بتس و همکاران، 1973). ابتدا 5 گرم از اندام هوایی و ریشه توسط 10 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 3 درصد در هاون چینی کاملا ساییده و در نهایت با کاغذ صافی صاف می‌شود. به 2 میلی‌لیتر از محلول حاصل، 2 میلی‌لیتر معرف ناینهیدرین اضافه و پس از قرارگیری در حمام آب جوش به مدت یک ساعت، لوله‌های محتوی محلول حاصل در یخ قرار می‌گیرد تا سرد شود. بعد از این مرحله، 4 میلی‌لیتر تولوئن اضافه می‌گردد. از فاز رویی برای اندازه‌گیری میزان پرولین در طول موج 520 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده می‌شود.

**4-11 اندازه‎گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)**

نمونه‌برداری با استفاده از قیچی از برگ رفرنس (آخرین برگ توسعه یافته) تمامی تیمارهای آزمایشی انجام و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفته و در آزمایشگاه وزن تر آنها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری می‌شود (برگ‌ها نباید دچار شکستگی و پارگی باشند)، سپس تمامی نمونه‌‏ها در آب مقطر قرار داده می‌شود و به مدت 24 ساعت در سردخانه (Cold Room) در دمای 4 درجه سلسیوس قرار خواهد گرفت. بعد از 24 ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت 24 ساعت دیگر در دمای 70 درجه سلسیوس در آون قرار گرفته و وزن خشک هر کدام اندازه‌‎گیری می‌شود. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین با ترازوی دارای دقت یک ده هزارم در فرمول زیرRWC بدست می‌آید (رتچیو نگوین، 1990):

RWC= Fw – DW / SW –DW ×100

Fw: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری

:DW وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون

: SW وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

**4-12** رنگدانه ؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟

**5- تجزیه آماری**

تجزیه واریانس داده‌ها با نرم افزار SAS و SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون‌های رایج و نمودارها با برنامه Microsoft office Excel رسم خواهد شد.

**منابع مورد استفاده**

باقری، 1. (1377). بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت هاي بومی گلرنگ ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزي. دانشگاه تهران.

اسکندری، ح. کاظمی، ک. (1398). ارزیابی اثر سطوح آبیاری و مدیریت حاصلخیزی خاک بر عملکرد دانه و روغن کنجد (. Sesamum indicum L). تنش های محیطی در علوم زراعی. دوره 12، شماره 1، شماره 111-122.

ابراهیمی، ف. مجیدی، م.م. ارزانی، ا. محمدی نژاد، ق. دهقان کوهستانی، ر. (1396). پتانسیل تولید و تحمل به خشکی تعدادي از ژنوتیپهاي داخلی و خارجی گلرنگ در سه منطقه ایران. نشريه توليد و فرآوري محصولات زراعي و باغي. سال هفتم. شماره سوم.

سنندجی، س. و و. مظفریان. (2010). فلور منطقه سارال استان کردستان. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، (3): 59-84.

شیروند، ر.مجیدی، م.م.(1393).مقایسه گونه‌هاي وحشی و اهلی گلرنگ از نظر تحمل به تنش خشکی و تنوع صفات مرفولوژیک و زراعی، نشریه پژوهش هاي زراعی ایران 738-750 .ص، شماره 4 ، جلد 12.

شهبازی، ه. سعیدی، غ. (1386). تجزیه و تحلیل ژنتیکی برای اجزای عملکرد و سایر خصوصیات زراعی در گلرنگ (Carthamus tinctorius L). Genet Breed .36. 11-20.

شفیعی کویج، ف. ع. میرلوحی، م. م. مجیدی، غ. سعیدی، م. بادپر و غ.ویسی. (2019). ارزیابی افزایش ژنتیکی در تلاقی‌های بین گونه‌ای جنس Carthamus با استفاده از شاخص تحمل به تنش خشکی همراه با انتخاب تک گیاهی. مجله علوم زراعی ایران. 20 (4): 303-314.

راشد محسن، م. نجفی، ح. اکبرزاده، م. (1380). زیست شناسی و کنترل علف های هرز. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

قدرتي غ.ر.(1376). بررسي تنوع ژنتيكي و سيتوژنتيكي توده هاي بهاره بومي گلرنگ ايراني. پايان نامه كارشناسي ارشد دانشگاه تربيت مدرس.

عظیم زاده، م.(1389). بررسی تحمل به خشکی در 16 ژنوتیپ گلرنگ (Carthamus tinctorius L.). پژوهش های زراعی ایران. 8: 5، 877-871.

غلامی، م. صباغ نیا، ن. نورآیین، م. شکاری، ف. جان محمدی، م . (1397). تجزیه خوشه اي برخی از ژنوتیپ هاي گلرنگ با استفاده از تعدادي ویژگی زراعی ، پژوهش نامه اصلاح گیاهان زراعی/ سال دهم/ شماره 25 .

نادری، م.نورمحمدی، ق. مجیدی، ه. درویش، ف.شیرانی رد، ا. مدنی، ح. 1384).بررسی عكس العمل های گلرنگ تابستانه به شدت های مختلف تنش خشكی در منطقه اصفهان.مجله علوم زراعی -.ایران.جلد 7، شماره 3، صفحات212-225.

Akhtar, N. and Ihsan-ul-Haq, B.M. (2018) Phytochemical Analysis and Comprehensive Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Properties of 61 Medicinal Plant Species. Arabian Revues of Chemistry, 11, 1223-1235. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.013

Able, G. H. (1976). Effects of irrigation regimes, planting date, nitrogen levels and spacing on safflower cultivars. *Agronomy Journal.* 68:448-451.

Amini, F., Saeidi, G. and Arzani, A. (2008). Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers. *Euphytica journal*. 163:21–30.

Amini, F. Saeidi, G. Arzani, A. (2007). Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers. *Euphytica journal*. 163, 21-30.

Bukhsh, E. Malik, SA. Ahmad, SS. Erum, S. (2014). Hepatoprotective and hepatocurative properties of alcoholic extract of *Carthamus oxyacantha* seeds, *African Journal of Plant* *Science*, 8(1), 34-41.

Bates, L. S. Waldern, S. P. Teave, I. D. (1973). Rapid determination of proline for water stress studies. *Journal of Plant and soil*. 39, 205-207.

Dittrich, M. Petrak, F. Rechinger, K.H. Wagenitz, G. (1979). Compositae Cynareae. In: Rechinger, K.H. (ed.), Flora Iranica. *Journal of Echology*, 18:1216–1220.p: 139-468.

Espanani, S. Majidi, M.M.Alaei, H. Saeidi, GH. Fezeh Farhadi, F. (2019). Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-8311, Iran.

Falconer, D., and Mackay, F.C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Longman Group Ltd.

Golkar, P. Arzani, A. Rezaei, M. (2011). Determining relationships among seed yield, yield components and morpho-phenological traits using multivariate analysis in safflower (Carthamus tinctorius L.). *Annals of Biological Research*. 2, 162-169.

Hole check, J.L., D. Rex & H. Carlton. (2004). Presence of major and trace elements in seven medicinal plants growing in South-Eastern Desert, Egypt. *Journal of Arid Environment*, 66: 210-217.

Hajjar, R. and T. Hodgkin. (2007). the use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years*. Euphytica*.156: 1-13.

Hassan, Z. V.U. Ahmad and J. Hussain. (2010). Two new carthamosides from *Carthamus oxycantha. Natural Product Communication,* 5: 419-422.

Johnson, RC. Kisha, TJ. Evans, MA. (2007). Characterizing safflower germplasm with AFLP molecular markers*. Crop Science society of America*. 47: 1728-1736.

Khan, MA. Von, S. Witzke-Ehbrecht, B. Maass, L. Becker, HC. (2009). Relationships among different geographical groups, agromorphology, fatty acid composition and RAPD marker diversity in Safflower (*Carthamus tinctorius)*. *Genetics Resources and Crop Evolution.* 56:19-30.

 Kouhnavard, P., Jalilian, J. & Pirzad, A. (2012). Effect of foliar application of micro-nutrients on yield and yield components of safflower under conventional and ecological cropping systems. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 3 (7), 1460-1469.

Liu, L.; Guan, L.-L.; Yang, Y.-X. (2016). A Review of fatty acids and genetic characterization of safflower (*Carthamus tinctorius L*.) seed oil. *Organic Chemistry Current Research journal*. 5, 160–163. [CrossRef].

McPherson, M.A., Good, A.G., Topinka, A.K.C., Hall, L.M. (2004). Theoretical hybridization potential of transgenic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) weedy relatives in the New World. *Canadian Journal of Plant Science*. 84: 923-934.

Mundel, H.H., R.J. Morrison, R.E. Blackshaw, T. Entz, B.T. Roth, R. Guadiel, and F. Kiehn. (1994). Seeding date effects on yield quality and maturity of safflower. *Canadian journal of plant science*. 74: 261-266.

Mostafaie, F., A.F. Mirlohi, Gh. Saiedi, M.R. Sabzalian, P. Asgarinia and M. Gheisari. (2014). Evaluation of variation and drought tolerance in F3 generation of a cross between domesticated (*Carthamus tinctorius L*.) and wild (*C. oxyacanthus L*.) safflower species. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 16(3): 165-180.

Mahasi MJ, Wachira FN, Pathak RS and Riungu T. (2009). Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorious L*.) using RAPD markers. Journal of Plant Breeding and Crop Science. V1 (1): 008-012.

M. Iftikhar Hussain & Dionyssia-Angeliki Lyra& Muhammad Farooq & Nikolaos Nikoloudakis & Nauman Khalid. (2016). Salt and drought stresses in safflower: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 36: 4 DOI 10.1007/s13593-015-0344-8.

Mosavi Ojagh, SM. Mozafari, H. Jabbari, H. Sani, B. (2019). Study of Genetic Variation in Safflower Germplasm for Early Maturity and Grain Yield using Multivariate Statistical Methods, *Journal of Crop Breeding.* Vol 11. , No 30, Summer 2019

Ritchie, S. W., and Nguyen, H. T. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30: 105-111.

Salunkhe, D. K., Chavan, J. K, Adsule, R. N. and Kadam, S. S. (1991). World oilseeds*. Chemistry technology, and utilization. Van Nostrand Reinhold Press*. New York.

Sujatha M. (2008). Biotechnological interventions for genetic improvement of safflower. *7th International Safflower Conference*. Wagga Wagga Australia.

San Feliciana A, Barrero AF, Miguel Del Corral JM, Gacimartin MV, Medarde M. (1982). Phytochemistry 21:2115-2117.

Soltani L, Ebrahimi F, Mohammadi Nejad Gاh. (2020). Marker association and genetic variation of agronomic traits in safflower) Carthamus tinctorius L. (using AFLP marker. *Agricultural Biotechnology Journal*. 12 (2), 43-62.

Salo-vaananen P.P., Koivistoinen P.E. (1996). Determination of protein in foods: comparison of net protein and crude protein (N6.25) values. *Journal of Food Chemistry*, 57 (5): 27-31.

Zeinali, E. (1999). Safflower, characteristics, production and utilization. *Gorgan University Press*, Iran. 137 pp.

Yazdi - Samadi B and Abd.Mishani C. (1991). Cluster analysis in safftawer. *Proceeding of Indian Society of Oil seed Research*, 119.126.

Yang, YX. Wu, W., Zheng, WYL. Chen L, Liu RJ and Huang, CY. (2007). Genetic diversity and relationships among safflower (*Carthamus tinctorius L*.) analysed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Genet Resources and Crop Evolution journal*. V (54), 1043-1051.