

اثر تنش خشکی بر عملکرد دانه، عملکرد اسانس و قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در اکوتیپ‌های سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)

روزبه فرهودی^{۱*} و عادل مدحج^۲

*۱- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

پست الکترونیک: rfarhoudi@gmail.com

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۶

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد دانه و اسانس، ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس و میزان تجمع اسمولیت‌های سازگار در برگ دو اکوتیپ سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، این تحقیق در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر انجام شد. آزمایش به صورت کرت‌های یک‌بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. چهار سطح آبیاری براساس ۹۰، ۸۰، ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه در کرت اصلی و اکوتیپ‌های کاشمر و شهرضا به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید به ترتیب عملکرد دانه سیاهدانه توده کاشمر را ۲/۴، ۲۰/۲ و ۴۰/۱ درصد و عملکرد دانه توده شهرضا را ۶/۲، ۳۸/۱ و ۶۳ درصد در مقایسه با شرایط نرمال کاهش داد. کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش شدید به دلیل کاهش معنی‌دار تعداد کپسول و دانه در کپسول بود. عملکرد اسانس توده‌های کاشمر و شهرضا در شرایط تنش خشکی شدید نسبت به شاهد به ترتیب ۱۸٪ و ۵۴٪ کاهش یافت. البته توده کاشمر دارای میزان کربوهیدرات و پروتئین بیشتری در شرایط تنش نسبت به توده شهرضا بود. این ویژگی باعث شد که توده کاشمر از محتوی نسبی آب بیشتر و شیب تغییرات عملکرد دانه و عملکرد اسانس کمتری نسبت به توده شهرضا برخوردار باشد. در شرایط شاهد و تنش خشکی شدید به ترتیب ۸۵٪ و ۹۳٪ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس توده کاشمر و ۸۲٪ و ۹۳٪ اجزای اسانس توده شهرضا شناسایی شد. تنش خشکی موجب افزایش درصد اسانس در هر دو توده شد و اسانس توده کاشمر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت. به طور کلی در شرایط تنش ملایم به دلیل افزایش درصد اسانس و عدم کاهش معنی‌دار عملکرد دانه، بیشترین عملکرد اسانس هر دو توده بدست آمد. از این رو به نظر می‌رسد اعمال تنش ملایم کنترل شده باعث بهبود ویژگی‌های کیفی سیاهدانه بدون اثر بر عملکرد کمی آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پارا-سیمن، درصد اسانس، محتوی نسبی آب.

مقدمه

Nigella sativa L. از خانواده آلاله (Ranunculaceae)

گیاهی است یک‌ساله، علفی و گلدار که جایگاه ویژه‌ای در طب سنتی دارد و به فراوانی در مناطق مختلف ایران

گیاهان دارویی بخش مهمی از فلور غنی ایران را تشکیل می‌دهند. گیاه سیاهدانه با نام علمی

کپسول در بوته گیاه سیاهدانه در واکنش به تنش خشکی می‌باشد (Rezaei Chiyaneh & Pirzad, 2014)؛ (Kakulvand *et al.*, 2016).

گونه‌های متحمل به تنش خشکی قادرند با تغییراتی مانند کاهش سطح تعرق‌کننده، افزایش طول و حجم ریشه و تولید اسمولیت‌های سازگار، اثر تنش خشکی را تا حدود کاهش دهند. در سطح سلولی، برخی ژنوتیپ‌ها با تجمع اسمولیت‌ها مانند انواع ترکیب‌های قندی، اسیدهای آمینه، آمین‌های چهارتایی، اسیدهای آلی و یون‌ها، فشار تورژسانس سلول را تنظیم کرده و از خسارت به سلول و توسعه سطح برگ تا حدودی جلوگیری می‌نمایند (Movahhedy Dehnavy *et al.*, 2002). از دیگر اسمولیت‌ها می‌توان به کربوهیدرات‌های محلول، گلیسین بتائین و پرولین اشاره کرد که در شرایط تنش خشکی علاوه بر افزایش آب قابل دسترس سلول باعث کاهش اثر منفی تنش بر پایداری غشای سلولی می‌شوند (Abbaszadeh *et al.*, 2008). تحقیقات نشان داده که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار رشد و عملکرد دانه و اسانس سیاهدانه شد اما میزان تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در برگ سیاهدانه در واکنش به تنش خشکی افزایش یافت (Rezapor *et al.*, 2011). به طوری که با بررسی اثر تنش خشکی بر رشد گیاه دارویی بابونه، گزارش شده که تنش افزایش تنظیم‌اسمزی گیاه بابونه را به دنبال داشت. در این پژوهش، افزایش غلظت پرولین و متابولیت‌های ثانویه منجر به افزایش تحمل خشکی شد (Arazmjo *et al.*, 2010). در بررسی اثر تنش خشکی بر رشد و فیزیولوژی بادرنجبویه نیز گزارش شده است که تنش خشکی سبب افزایش غلظت اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین و قندهای محلول شد (Abbaszadeh *et al.*, 2008).

گونه‌های فعال اکسیژن مانند آب اکسیژنه و سوپراکسید، ترکیب‌هایی هستند که باعث آسیب اکسیداتیو به زیرساخت‌های سلولی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌شوند. تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در

به صورت زراعی و خودرو رشد می‌کند. مهمترین ویژگی دارویی سیاهدانه در منابع طب سنتی به صورت قاعده‌آور، مسهل، درمان التهابات پوستی و شیرافزا بیان شده است (Khooshbin, 2007). ترکیب‌های مختلف شیمیایی موجود در اسانس دانه این گیاه مانند نیژلون، تیموکتون، پارا-سیمن، بتا-پینن، آلفا-پینن و سایینن موجب بروز صفات دارویی در این گیاه می‌شود (Benkaci-Ali *et al.*, 2013؛ Heidari & Jahantighi, 2014).

تنش خشکی هنگامی رخ می‌دهد که میزان آب قابل دسترس گیاه کمتر از تلفات آب و مصرف آب در گیاه باشد و با توجه به مرحله رشد و نمو و شدت تنش خشکی موجب کاهش تولید زیست‌توده و عملکرد و حتی مرگ گیاه می‌شود (Haidari Sharif Abad, 1999)؛ (Zarei *et al.*, 2017). تغییرات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی در واکنش به تنش خشکی در برخی ژنوتیپ‌ها، افزایش تحمل به این تنش غیرزیستی را به دنبال دارد (Modhej & Fathi, 2006). رشد و نمو گیاهان دارویی مانند سایر گیاهان در اثر تنش خشکی کاهش می‌یابد اما این شرایط تنش‌زا معمولاً سبب تشدید سنتز متابولیت‌های ثانویه شامل مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌شود. نکته قابل توجه این است که وقوع تنش خشکی ملایم و کنترل شده می‌تواند افزایش کیفیت گیاهان دارویی را به دنبال داشته باشد، زیرا قسمت عمده اسانس و اثر دارویی این گیاهان ناشی از تجمع متابولیت‌های ثانویه است (Petropoulos *et al.*, 2008). بهر حال، کاهش عملکرد ماده خشک گیاه در واکنش به تنش خشکی از سوی دیگر ممکن است منجر به کاهش عملکرد ماده مؤثر گیاه دارویی شود. نتایج یک تحقیق نشان می‌دهد که تنش خشکی در مراحل مختلف رشد سیاهدانه سبب کاهش معنی‌دار عملکرد دانه، تعداد انشعابات بوته، وزن و تعداد دانه شده اما درصد اسانس دانه در این شرایط افزایش یافته است (Heidari & Jahantighi, 2014). تحقیقات بیانگر کاهش معنی‌دار رشد رویشی، عملکرد دانه، تعداد دانه در بوته و تعداد

خاک مزرعه و شرایط اقلیمی در جدول های ۱ و ۲ ارائه شده است.

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر به صورت کرت های یک بار خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. چهار سطح آبیاری شامل شاهد، آبیاری بهینه، تنش ملایم، متوسط و شدید (به ترتیب براساس ۹۰، ۸۰، ۷۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه) در کرت اصلی قرار گرفتند. اکوتیپ های کاشمر (خراسان شمالی) و شهرضا (اصفهان) نیز به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. برای تعیین سطوح تنش خشکی از دستگاه انعکاس سنجی زمانی مدل ایمیکو استفاده شد. این دستگاه اندازه گیری رطوبت در لایه های ۳۰ سانتی متری را در اعماق مختلف خاک امکان پذیر می سازد. امواج تولید شده توسط دستگاه در محدوده ای از نیمرخ خاک منتشر شده و عدد بدست آمده را به عنوان ظرفیت رطوبت خاک ثبت می کند.

عملیات کاشت در ۲۰ آبان انجام شد. هر کرت آزمایشی از هفت خط کشت به طول ۳ متر، فاصله بوته روی ردیف ۷ سانتی متر و فاصله خطوط ۳۰ سانتی متر تشکیل شد. فاصله کرت های اصلی از یکدیگر ۱/۵ متر و فاصله بلوک ها ۲ متر بود. برای عملیات کاشت، بذرها به صورت نواری در کرت مسطح کاشته شده و روی بذر با یک لایه نازک خاک مزرعه پوشیده شد. سه هفته بعد از سبز شدن گیاهان، آبیاری به صورت کرتی با توجه به اعمال تنش خشکی انجام شد و تا زمان آخرین آبیاری براساس رطوبت خاک، تنش خشکی اعمال شد. برای جلوگیری از اثر بارندگی های فصلی بر نتایج آزمایش، سایه بان پلاستیکی تعبیه که در زمان بارندگی با پوشش کامل کرت ها مانع از رسیدن باران به سطح کرت ها شد. وجین علف های هرز و تنک کردن مزرعه به صورت دستی انجام شد.

بافت موجودات زنده موجب بروز بیماری های گوناگونی می گردد و این در حالیست که ترکیب های گیاهی منبع غنی آنتی اکسیدان ها هستند که رادیکال های آزاد اکسیژن را حذف می کنند (Faravani et al., 2006). همچنین امروزه در صنایع غذایی طیف گسترده ای از آنتی اکسیدان های طبیعی و مصنوعی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی استفاده می شود، اما اثر منفی آنتی اکسیدان های مصنوعی از یکسو و استقبال مصرف کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از سوی دیگر تمایل به استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی را بیشتر کرده است. به عنوان مثال ترکیب های پلی فنلی که در قسمت های مختلف گیاهان دارویی مانند برگ، ساقه، میوه، ریشه و بذر وجود دارد می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی استخراج و فرآوری شود (Benkaci-Ali et al., 2013). بررسی ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره سیاهدانه نشان داد که تنوع قابل توجهی در ویژگی های آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی اکوتیپ های مختلف سیاهدانه وجود داشت، به طوری که اکوتیپ های مشهد و کاشمر بیشترین میزان ویژگی آنتی اکسیدانی سیاهدانه را به خود اختصاص دادند (Mohamadi Dahcheshmeh et al., 2015). با توجه به اهمیت گیاه سیاهدانه در طب سنتی ایران و لزوم شناسایی ترکیب های اسانس این گیاه ارزشمند و بررسی ویژگی های آنتی اکسیدانی آن، این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد دانه و اسانس و ویژگی های آنتی اکسیدانی سیاهدانه انجام شد.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر ویژگی های کمی و کیفی دو اکوتیپ سیاهدانه انجام شد. ویژگی های

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

نیتروژن خاک (%)	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم در کیلوگرم خاک خشک)	فسفر قابل جذب (میلی گرم در کیلوگرم خاک خشک)	مواد آلی (%)	اسیدیته خاک	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	عمق نمونه (سانتی متر)	بافت
۰/۶۸	۱۹۴	۱۶/۵	۰/۵۱	۷/۲	۲/۱	۰-۳۰	لومی رسی
۰/۱۹	۱۳۸	۹/۱	۰/۶۱	۷/۳	۱/۵	۳۰-۶۰	لومی رسی

جدول ۲- میانگین دما و بارندگی در دوره آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۵-۹۶

اردیبهشت	فروردین	اسفند	بهمن	دی	آذر	آبان	
۱/۲	۴/۲	۱۴/۴	۲۹/۳	۸۰/۴	۵۴/۶	۲۱/۲	میانگین بارش ماهیانه (میلی متر)
۳۱/۲	۲۷/۲	۲۳/۲	۲۱/۱	۱۸/۲	۱۷/۳	۲۲/۷	میانگین دمای ماهیانه (درجه سانتی گراد)

آزمایشگاه و تفکیک کامل دانه از بقایای گیاهی، این بقایا به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت منتقل گردید. وزن صد دانه نیز در هر کرت از دو نمونه تصادفی شمارش شد، در صورتی‌که اختلاف بیش از ۶٪ مشاهده نشد. میانگین این دو نمونه به عنوان وزن صد دانه درج گردید. محتوی آب نسبی برگ براساس رابطه ۱ زیر محاسبه شد (Shirazi et al., 2005):

$$\text{محتوی آب نسبی برگ} = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})}{(\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع})} \times 100$$

رابطه ۱

با دمای جوش آب، به مدت سه ساعت انجام گردید (Rezapor et al., 2011). پس از تکمیل اسانس‌گیری، وزن آن با ترازوی دقیق سنجیده شده و میزان عملکرد اسانس براساس مترمربع استخراج شد. شناسایی اجزاء و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس سیاهدانه با کمک دستگاه GC/MS مدل Agilent 5975 انجام شد (Benkaci-Ali et al., 2013).

برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس سیاهدانه، ۲/۴ میلی‌گرم پودر دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل شد (Bersuder et al., 1998). در لوله آزمایش به ۰/۲۵ میلی‌لیتر نمونه اسانس یا محلول استاندارد تولکس، یک میلی‌لیتر از محلول دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل الکلی اضافه شد. سپس این لوله آزمایش ۱۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت و بعد میزان جذب نور در ۵۷۰ نانومتر بررسی شد. با استفاده از این روش می‌توان ظرفیت و میزان ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره گیاهان را براساس درصد غیرفعال‌سازی (کاهش یا مهار) رادیکال DPPH بر مبنای غلظت مهارکننده تعیین نمود.

اواخر اردیبهشت‌ماه، به منظور بررسی ارتفاع بوته، زمانی که حداقل ۷۰٪ کپسول‌ها رسیده بودند ۱۰ بوته به صورت تصادفی با رعایت حاشیه کرت انتخاب و ارتفاع بوته از سطح زمین اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری ارتفاع بوته، تعداد کپسول در بوته و تعداد دانه در کپسول در این ۱۰ بوته شمارش و ثبت شد. به منظور بررسی عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی، یک مترمربع از وسط کرت آزمایشی کاملاً برداشت شده و پس از انتقال به

به منظور بررسی غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ، ابتدا ۰/۱ گرم برگ خشک آسیاب در یک لوله آزمایشی ریخته شد. آنگاه ۱۵ میلی‌لیتر الکل اتانول ۸۰٪ در حال جوشیدن به آن اضافه شد. بعد از حدود ۲۰ ثانیه نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از طی مراحل بعدی براساس پروتکل مربوطه بعد از ۴۵ دقیقه و با تثبیت رنگ قهوه‌ای در نمونه‌ها میزان جذب با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد. برای قرائت ابتدا محلول‌های استاندارد صفر و ۱۰ ppm تا ۱۰۰ ppm گلوکز ساخته شد و منحنی استاندارد رسم گردید. با استفاده از منحنی استاندارد و اعداد قرائت شده مقدار کربوهیدرات‌های محلول محاسبه شد (Dubois et al., 1956). برای بررسی غلظت پرولین برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد.

برای اندازه‌گیری اسانس، بذر سیاهدانه به مدت هفت روز در سایه خشک گردید. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. بدین منظور، ۳۰ گرم از بذره‌های خرد شده با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بالن مخصوص دستگاه کلونجر ریخته و اسانس‌گیری

تنش خشکی متوسط و شدید تعداد دانه در کپسول توده کاشمر را در مقایسه با شاهد به میزان $26/4\%$ و $40/7\%$ و تعداد دانه در کپسول توده شهرضا را در مقایسه با شاهد به میزان $41/7\%$ و 50% کاهش داد. این نتایج نشان داد که میزان کاهش تعداد کپسول در بوته و دانه در کپسول در توده شهرضا بیشتر از توده کاشمر بود.

ارتفاع بوته

تنش خشکی سبب کاهش معنی دار ارتفاع بوته سیاهدانه در هر دو توده مورد بررسی شد. تنش ملایم تأثیر معنی داری بر ارتفاع بوته توده کاشمر در مقایسه با شاهد نداشت، در حالی که تنش خشکی متوسط و شدید ارتفاع بوته این توده را در مقایسه با شاهد به ترتیب 17% و $28/2\%$ کاهش داد. کاهش معنی دار ارتفاع بوته توده شهرضا از خشکی ملایم آغاز شد و تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید ارتفاع بوته این توده را به ترتیب 13% ، $29/8\%$ و $41/1\%$ درصد کاهش داد (جدول ۴). این نتایج بیانگر کاهش بیشتر ارتفاع بوته در توده شهرضا در شرایط تنش خشکی شدید است.

درصد اسانس و عملکرد اسانس

نتایج بیانگر افزایش درصد اسانس سیاهدانه در هر دو توده کاشمر و شهرضا در واکنش به تنش خشکی بود، در حالی که در شرایط نرمال تفاوت معنی داری میان درصد اسانس سیاهدانه توده کاشمر ($0/89\%$) و توده شهرضا ($0/91\%$) مشاهده نشد (جدول ۴). تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید درصد اسانس توده کاشمر را در مقایسه با شاهد به ترتیب $22/4\%$ ، $22/6\%$ و 27% درصد و درصد اسانس توده شهرضا را به ترتیب $13/3\%$ ، $20/1\%$ و $19/4\%$ درصد افزایش داد. این نتایج نشان داد که میزان افزایش درصد اسانس در توده کاشمر بیش از توده شهرضا بود. تنش خشکی ابتدا عملکرد اسانس سیاهدانه را افزایش و در نهایت موجب کاهش عملکرد اسانس سیاهدانه شد. تنش

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال 5% انجام شد.

نتایج

عملکرد و اجزای عملکرد دانه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی، اکوتیپ و برهم‌کنش آنها بر عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیکی، ارتفاع بوته، تعداد کپسول در بوته و تعداد دانه در کپسول معنی دار بود (جدول ۳). تنش خشکی منجر به کاهش معنی دار عملکرد دانه سیاهدانه در توده‌های کاشمر و شهرضا شد اما میزان کاهش عملکرد دانه در توده شهرضا بیشتر بود (جدول ۴). تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید به ترتیب موجب کاهش عملکرد دانه سیاهدانه توده کاشمر به میزان $2/4\%$ ، $20/2\%$ و $40/1\%$ درصد در مقایسه با شاهد در مترمربع و کاهش عملکرد دانه توده شهرضا به میزان $6/2\%$ ، $38/1\%$ و 63% درصد در مقایسه با شاهد شد. تنش متوسط و شدید خشکی سبب کاهش معنی دار عملکرد بیولوژیکی هر دو توده سیاهدانه شد اما تنش ملایم اثر معنی داری بر عملکرد بیولوژیکی این دو توده نداشت (جدول ۴). عملکرد بیولوژیکی توده کاشمر در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید به ترتیب $10/1\%$ و $18/7\%$ در مقایسه با شاهد کاهش یافت، در حالی که کاهش عملکرد بیولوژیکی در توده شهرضا به ترتیب 15% و $44/2\%$ بود. نتایج نشان داد که تعداد کپسول در بوته و تعداد دانه در کپسول سیاهدانه در واکنش به تنش خشکی شدید و متوسط کاهش یافت (جدول ۴). تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید تعداد کپسول در بوته سیاهدانه توده کاشمر را در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان $7/3\%$ ، $25/6\%$ و $45/3\%$ درصد کاهش داد. در بوته سیاهدانه توده شهرضا نیز تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید تعداد کپسول در بوته را در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان $12/5\%$ ، $42/5\%$ و 60% درصد کاهش داد. البته تعداد دانه در کپسول هر دو توده تحت تأثیر تنش ملایم قرار نگرفت.

دو توده سیاهدانه مورد مطالعه شد. تنش خشکی ملایم تأثیر معنی داری بر محتوی آب نسبی برگ توده کاشمر نداشت، در حالی که تنش خشکی متوسط و شدید محتوی آب نسبی برگ این توده را به میزان ۱۲/۲٪ و ۲۰/۳٪ کاهش داد. در توده شهرضا تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید به ترتیب سبب کاهش محتوی نسبی آب برگ به میزان ۱۲، ۲۲/۲ و ۳۱/۴ درصد در مقایسه با شاهد شد. این نتایج نشان داد که کاهش محتوی آب نسبی برگ در توده شهرضا شدیدتر از توده کاشمر بود، به طوری که در تنش خشکی شدید میزان کاهش محتوی نسبی آب برگ در توده کاشمر و شهرضا به ترتیب ۱۸/۳٪ و ۲۹/۴٪ بود (جدول ۴).

نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش معنی دار غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ در هر دو توده کاشمر و شهرضا شد. سطوح تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ را در توده کاشمر در مقایسه با تیمار شاهد ۳۸/۲، ۶۲/۲ و ۷۰ درصد افزایش داد. در توده شهرضا نیز این سطوح تنش خشکی سبب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ به میزان ۴۳، ۴/۶ و ۵۵/۴ درصد در مقایسه با شاهد شدند. این نتایج نشان داد که میزان افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ تحت تأثیر تنش خشکی در توده کاشمر بیش از توده شهرضا بود (جدول ۴). بررسی تغییرات پرولین برگ نیز حکایت از افزایش معنی دار غلظت این ترکیب تحت تأثیر تنش خشکی متوسط و شدید در هر دو توده سیاهدانه داشت. در توده سیاهدانه کاشمر تنش خشکی متوسط و شدید غلظت پرولین برگ را در مقایسه با شاهد به میزان ۳۳/۶٪ و ۴۹٪ افزایش داد، در حالی که در توده شهرضا غلظت پرولین برگ در واکنش به تنش خشکی متوسط و شدید در مقایسه با شاهد ۴۸٪ و ۴۴٪ افزایش یافت (جدول ۴).

خشکی ملایم و متوسط عملکرد اسانس سیاهدانه توده کاشمر را در مقایسه با شاهد (۰/۶۵ گرم در مترمربع) به ترتیب به ۰/۷۸ و ۰/۶۷ گرم در مترمربع افزایش داد، در حالی که تنش خشکی شدید عملکرد اسانس را به ۰/۵۳ گرم در مترمربع کاهش داد. در توده شهرضا نیز تنش خشکی ملایم عملکرد اسانس را به ۰/۷۲ گرم در مترمربع در مقایسه با شاهد (۰/۶۷ گرم در مترمربع) افزایش داد، در حالی که عملکرد اسانس در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۳۰ گرم در مترمربع کاهش یافت (جدول ۴).

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس سیاهدانه در واکنش به خشکی در هر دو توده کاشمر و شهرضا افزایش یافت، البته باید توجه نمود در شرایط نرمال نیز توده کاشمر از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار بود (شکل ۱). نتایج نشان داد در توده کاشمر میزان حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید به ترتیب ۶۵، ۷۵ و ۸۳ درصد بود، در حالی که در شرایط مشابه در توده شهرضا میزان حذف رادیکال‌های آزاد به میزان ۶۲، ۶۹ و ۷۴ درصد بود. میزان حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن توسط آنتی‌اکسیدان صنعتی BHT در این شرایط ۹۳٪ بود. این نتایج بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در اسانس سیاهدانه توده کاشمر در مقایسه با توده شهرضا در تمامی سطوح آزمایش و اثر تنش خشکی بر افزایش میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت تأثیر افزایش درصد اسانس و افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه بود.

محتوی آب نسبی برگ، غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ

تنش خشکی سبب کاهش محتوی نسبی آب برگ در هر

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر عملکرد دانه، عملکرد اسانس و ویژگی‌های فیزیولوژیکی دو توده سیاهدانه

منبع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیکی	ارتفاع بوته	تعداد کپسول در بوته	تعداد دانه در کپسول	درصد اسانس	عملکرد اسانس	محتوی نسبی آب برگ	غلظت کربوهیدرات‌های محلول	غلظت پرولین
تکرار	۳	۱۹۴/۰ ***	۴۱۶/۴ ***	۱۱۰/۲ ***	۳۸/۵ ***	۲۶۱/۵ ***	۰/۰۰۵ns	۰/۱۳ns	۱۳/۲۱ ***	۴/۱۲ ***	۰/۰۰۰۰۱ ns
سطوح تنش خشکی	۳	۴۰۹/۱ ***	۹۳۳/۲ ***	۴۰۹/۲ ***	۲۰۳/۷ ***	۵۲۸/۱ ***	۰/۰۰۸۱ ***	۰/۳۳ ***	۱۱/۱۸ ***	۳/۳۵ ***	۰/۰۱۱ ***
خطای a	۹	۹/۵	۹۸/۴	۱۱/۶	۲۵/۰	۳۱/۹۰	۰/۰۰۵۴	۰/۱۶	۲/۷	۱/۱۹	۰/۰۰۱
اکوتیپ سیاهدانه	۱	۳۵۱/۶ ***	۱۲۱۹/۶ ***	۲۱۸/۰ ***	۳۲۵/۴ ***	۲۷/۵۱ *	۰/۰۰۹۷ ***	۰/۲۴ ***	۴/۱۸ ***	۵/۰۹ ***	۰/۰۰۱ ***
اکوتیپ × تنش خشکی	۳	۲۱۶/۹ ***	۱۰۱۶/۰ ***	۸۹/۴ ***	۱۹۷/۶ ***	۴۶۲/۲ ***	۰/۰۰۵۶ ***	۰/۲۸ ***	۱/۹۱ ***	۴/۷۹ ***	۰/۰۰۱ ***
خطای b	۱۲	۳/۲	۳۴/۶	۵/۷	۱۱/۵	۲۲/۰۱	۰/۰۰۰۸	۰/۰۶	۱/۰۳	۰/۹۴	۰/۰۰۰

***: معنی‌دار در سطح ۱٪، **: معنی‌دار در سطح ۵٪، ns: غیر معنی‌دار

جدول ۴- مقایسه میانگین عملکرد دانه، عملکرد اسانس و صفات وابسته به آنها در توده‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و تنش خشکی

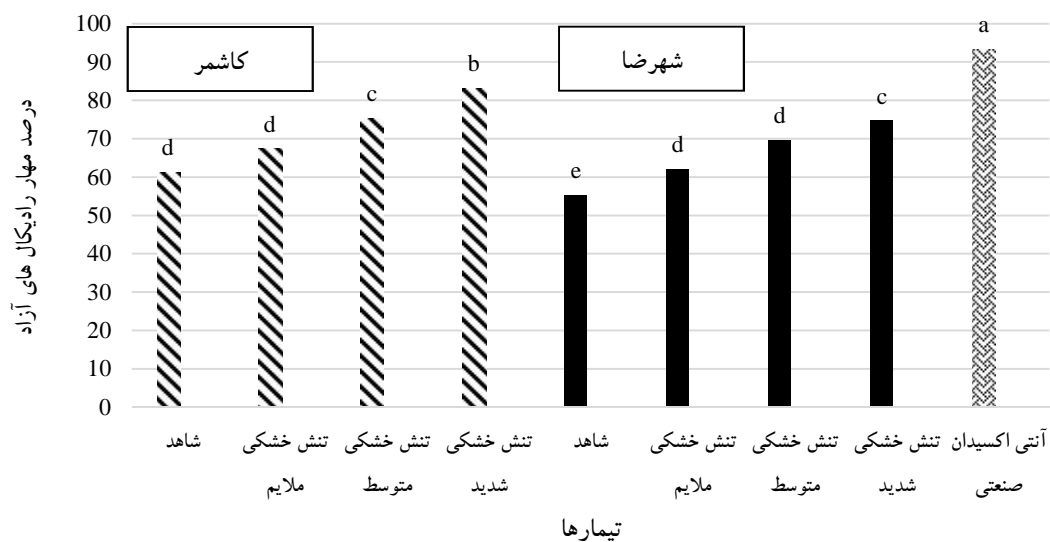
تیمارها	عملکرد دانه (گرم در مترمربع)	عملکرد بیولوژیکی (گرم در مترمربع)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد کپسول در بوته	تعداد دانه در کپسول	درصد اسانس	عملکرد اسانس (گرم در مترمربع)
کاشمر							
شاهد	۷۳/۲a	۱۹۰۴a	۵۲/۴a	۲۱/۴a	۴۵/۲a	۰/۸۹d	۰/۶۵۱d
تنش ملایم	۷۱/۷a	۱۸۴۰a	۵۰/۵a	۱۹/۸a	۴۲/۱a	۱/۰۹c	۰/۷۸۱a
تنش متوسط	۵۸/۴b	۱۷۱۰b	۴۳/۴b	۱۵/۹b	۳۳/۱b	۱/۱۵b	۰/۶۷۱c
تنش شدید	۴۳/۸c	۱۵۴۶d	۳۷/۸c	۱۱/۷c	۲۶/۸c	۱/۲۲a	۰/۵۳۴e
شهرضا							
شاهد	۷۴/۱a	۱۹۱۸a	۵۱/۳a	۲۲/۳a	۴۳/۱a	۰/۹۱d	۰/۶۷۲c
تنش ملایم	۶۹/۵a	۱۷۳۳b	۴۴/۲b	۱۹/۵a	۴۳/۷a	۱/۰۵c	۰/۷۲۹b
تنش متوسط	۴۵/۸c	۱۶۲۷c	۳۶/۰c	۱۲/۸c	۲۵/۱c	۱/۱۴b	۰/۵۲۲e
تنش شدید	۲۷/۴d	۱۰۶۹e	۳۰/۵d	۸/۹d	۲۱/۶d	۱/۱۳b	۰/۳۰۹f

در هر ستون، اعدادی که حروف مشترک دارند، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ به روش دانکن هستند.

جدول ۵- مقایسه میانگین ویژگیهای فیزیولوژیک در توده‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و تنش خشکی

تیمارها	غلظت پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر برگ)	غلظت کربوهیدرات‌های محلول (میلی گرم بر گرم وزن خشک برگ)	محتوی نسبی آب برگ (%)
کاشمر			
شاهد	۱۱۰/۸c	۹۱/۱d	۸۳/۳a
تنش ملایم	۱۱۳/۱c	۱۴/۷c	۸۲/۵a
تنش متوسط	۱۶۷/۱b	۲۴/۱b	۷۰/۳b
تنش شدید	۲۱۷/۳a	۳۰/۳a	۶۵/۳c
شهرضا			
شاهد	۱۱۲/۳c	۱۰/۲d	۸۴/۰a
تنش ملایم	۱۱۹/۰c	۱۰/۷d	۷۲/۱b
تنش متوسط	۲۱۶/۷a	۱۷/۹bc	۶۳/۰c
تنش شدید	۲۱۳/۹a	۲۲/۹b	۵۵/۷d

در هر ستون اعدادی که حروف مشترک دارند، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ به روش دانکن هستند.



شکل ۱- ویژگی آنتی‌اکسیدانی دو توده کاشمر و شهرضا در تیمارهای تنش خشکی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان صنعتی

جدول ۶- بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس سیاهدانه در شرایط نرمال آبیاری و تنش خشکی شدید

توده شهرضا		توده کاشمر		نام ترکیب	ردیف	توده شهرضا		توده کاشمر		نام ترکیب	ردیف
تنش خشکی شدید (%)	شاهد (%)	تنش خشکی شدید (%)	شاهد (%)			تنش خشکی شدید (%)	شاهد (%)	تنش خشکی شدید (%)	شاهد (%)		
۰/۳۲	۰/۱۹	۰/۵۱	۰/۲۷	cis-sabinene hydrate	۱۵	۰/۱۵	---	۰/۱۹	۰/۱۷	tricyclene	۱
۰/۲۴	۰/۱۹	---	۰/۱۱	linalool	۱۶	۱۵/۷۵	۱۴/۱۲	۲۰/۵۰	۱۹/۳۲	-thujene	۲
۱۴/۶۵	۱۳/۱۷	۱/۱۹	۱/۱۴	thymoquinone	۱۷	۴/۱۱	۳/۴۳	۴/۹۷	۴/۲۳	-pinene	۳
۲/۶۱	۲/۲۳	۱/۰۱	۱/۰۹	carvacrol	۱۸	۱/۱۵	۱/۰۷	۱/۰۲	۰/۹۵	sabinene	۴
۰/۰۶	---	۰/۰۸	۰/۰۵	-humulene	۱۹	۰/۱۸	۰/۱۱	۰/۱۴	---	camphene	۵
۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	---	-longifolene	۲۰	۴/۷۸	۴/۴۲	۶/۲۱	۵/۸۳	-pinene	۶
۰/۸۹	۰/۶۷	۰/۳۵	۰/۲۹	-copaene	۲۱	۱/۹۳	۱/۵۵	۱/۷۸	۱/۴۱	-terpineoleno	۷
۰/۱۱	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۹	8-heptadecene	۲۲	---	---	۰/۰۸	---	myrcene	۸
۰/۵۱	---	۰/۶۵	۰/۵۴	-caryophyllene	۲۳	۰/۰۶	---	---	---	-phellandrene	۹
۰/۷۱	۰/۵۹	۱/۰۵	۰/۸۸	trans- -ocimene	۲۴	۳۶/۵۲	۳۴/۱۰	۴۲/۲۵	۳۹/۱۲	-cymene	۱۰
۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۲۶	۰/۱۹	caryophyllene-oxide	۲۵	۱/۲۱	۱/۰۲	۲/۲۵	۱/۹۸	limonene	۱۱
---	---	۰/۰۶	۰/۰۸	chrysanthenone	۲۶	۵/۳۵	۵/۰۹	۴/۲۱	۴/۶۱	-terpinene	۱۲
---	---	۰/۱۲	۰/۰۹	thymohydroquinone	۲۷	۰/۰۸	---	۰/۱۴	۰/۰۵	1,8-cineole	۱۳
۰/۰۸	---	---	---	davanone	۲۸	۰/۶۷	۰/۳۸	۱/۹۳	۱/۱۶	-terpinene	۱۴
۰/۳۱	۰/۱۹	۲/۰۱	۱/۴۰	pimaradiene	۲۹						
۹۳/۶۶	۸۲/۶۶	۹۳/۱۶	۸۵/۱۰	مجموع (%)							

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

بررسی نتایج جدول ۶ نشان داد که در شرایط شاهد و تنش خشکی شدید به ترتیب ۸۵٪ و ۹۳٪ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس سیاهدانه توده کاشمر و ۸۲٪ و ۹۳٪ اجزای اسانس سیاهدانه توده شهرضا شناسایی شد. بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس توده کاشمر در شرایط نرمال عبارت بودند از: پارا-سیمن (۳۹/۱٪)، آلفا-توجن (۱۹/۳٪)، بتا-پینن (۵/۸٪)، گاما-تریپینن (۴/۶٪) و آلفا-پینن (۴/۲٪). در شرایط تنش خشکی شدید نیز ترکیب‌های پارا-سیمن (۴۲/۲٪)، آلفا-توجن (۲۰/۵٪)، بتا-پینن (۶/۲٪) و آلفا-پینن (۴/۹٪) بیشترین اجزای اسانس سیاهدانه توده کاشمر را به خود اختصاص دادند. در توده شهرضا در شرایط شاهد، ترکیب‌های پارا-سیمن (۳۴/۱٪)، آلفا-توجن (۱۴/۱٪)، تیموکینن (۱۳/۱٪) و گاما-تریپینن (۵/۰٪) بیشترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس سیاهدانه بودند. در شرایط تنش خشکی شدید نیز پارا-سیمن (۳۶/۵٪)، آلفا-توجن (۱۵/۷٪)، تیموکینن (۱۴/۶٪) و گاما-تریپینن (۵/۳٪) بیشترین اجزای اسانس سیاهدانه توده شهرضا را به خود اختصاص دادند.

بحث

نتایج نشان داد که تنش خشکی متوسط و شدید عملکرد دو رقم سیاهدانه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد، اما کاهش عملکرد این دو رقم در تنش ملایم نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. البته کاهش عملکرد دانه ارقام سیاهدانه در واکنش به تنش خشکی به دلیل کاهش معنی‌دار تعداد کپسول در بوته و تعداد دانه در کپسول بود. بررسی واکنش سیاهدانه به تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی با اثر منفی بر تعداد کپسول در بوته و دانه در کپسول سبب کاهش معنی‌دار عملکرد دانه این گیاه دارویی شد (Rezaei Chiyaneh & Pirzad, 2014). عملکرد بیولوژیکی نیز تحت تأثیر تنش خشکی متوسط و شدید به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و منجر به کاهش عملکرد دانه شد. گزارش شده که در شرایط

تنش خشکی کاهش سطح برگ و کاهش فتوسنتز و همچنین کوتاه شدن دوره پر شدن دانه‌ها سبب کاهش عملکرد دانه در گیاهان می‌شود. در شرایط تنش خشکی کاهش زیست‌توده سایه‌انداز گیاه، کاهش تعداد کپسول در بوته و دانه در کپسول سبب کاهش عملکرد دانه سیاهدانه شد (Noorooz poor & Rezvani Moghadam, 2009) که با این پژوهش همخوانی دارد. اثر تنش خشکی و متوسط بر عملکرد بیولوژیکی معنی‌دار بود. دو رقم سیاهدانه واکنش متفاوتی به تنش نشان دادند، به نحوی که عملکرد بیولوژیکی توده شهرضا در مقایسه با توده کاشمر از حساسیت بیشتری به تنش خشکی برخوردار بود (جدول ۴). در یک تحقیق با بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی سیاهدانه گزارش شد که تنش خشکی با اثر منفی بر رشد رویشی و تعداد انشعابات بوته، تعداد دانه در کپسول و تعداد کپسول در بوته سبب کاهش معنی‌دار عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی سیاهدانه گردید (Heidari & Jahantighi, 2014). در این پژوهش تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع بوته سیاهدانه شد، زیرا در شرایط تنش خشکی فتوسنتز گیاه کاهش یافته و مواد فتوسنتزی کافی برای رشد گیاه در اختیار آن قرار نمی‌گیرد. همچنین به دلیل کاهش رطوبت نسبی برگ، تقسیم و رشد سلولی در منطقه مریستمی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که کاهش ارتفاع بوته از نتایج آن است (Rezaei Chiyaneh & Pirzad, 2014). محققان کاهش زیست‌توده و عملکرد بیولوژیکی سیاهدانه در واکنش به تنش خشکی را گزارش نموده و بیان کردند که کاهش عملکرد گیاه در شرایط خشکی می‌تواند به دلیل کاهش سطح فتوسنتزکننده، کاهش تولید کلروفیل، افزایش انرژی مصرفی گیاه برای بالا بردن غلظت شیره سلولی، تغییر در مسیرهای تنفسی و یا افزایش حجم ریشه باشد (Rezapour et al., 2011). البته تعداد کپسول در بوته و تعداد دانه در کپسول به‌طور معنی‌دار در دو تنش متوسط و شدید در هر دو توده مورد مطالعه کاهش یافت (جدول ۴). توده کاشمر از درصد کاهش کپسول و دانه در کپسول کمتری

این کاهش را جبران کند. عملکرد اسانس برآیند تغییرات درصد اسانس و عملکرد دانه است و این پژوهش نشان داد در شرایط تنش خشکی ملایم با وجود عدم تغییر در وزن دانه هر دو توده، به دلیل افزایش درصد اسانس، عملکرد اسانس نیز افزایش یافت. همچنین در توده کاشمر در سطح تنش خشکی متوسط با وجود کاهش عملکرد دانه، عملکرد اسانس دانه در مقایسه با شاهد به میزان معنی داری افزایش یافت که دلیل آن افزایش درصد اسانس بود. در شرایط تنش خشکی شدید افزایش درصد اسانس دانه نتوانست کاهش عملکرد دانه را جبران نماید و در نهایت منجر به کاهش شدید عملکرد اسانس دانه هر دو توده به ویژه توده شهرضا شد. تنش خشکی سبب کاهش اجزای عملکرد دانه شده و در نهایت عملکرد اسانس سیاهدانه را نیز کاهش داد (Rezapor *et al.*, 2011). Farhoudi و Makizadeh Tafti (۲۰۱۳) نیز با بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد اسانس بابونه مشاهده نمودند در شرایط تنش متوسط با وجود کاهش عملکرد گل بابونه، به دلیل افزایش درصد اسانس، عملکرد اسانس در مقایسه با شاهد افزایش یافت که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد.

نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس سیاهدانه در واکنش به خشکی در هر دو توده کاشمر و شهرضا افزایش یافت (شکل ۱). توده کاشمر از ویژگی آنتی اکسیدانی بیشتر نسبت به توده شهرضا در شرایط تنش برخوردار بود. محققان اسانس سیاهدانه را به دلیل وجود ترکیب هایی مانند پارا-سیمن، تیموکینن، گاما-تریپینن، لیمونن، تانن و بتا-پینن منبع غنی از آنتی اکسیدانها معرفی نموده اند که قابلیت کنترل رادیکالهای آزاد اکسیژن را دارد (Faravani *et al.*, 2006). Oroojalian *et al.*, 2010 بررسی ویژگی آنتی اکسیدانی هفت توده سیاهدانه ایرانی نشان داد که توده های کاشمر و مشهد دارای ویژگی آنتی اکسیدانی بیشتری در مقایسه با سایر توده ها بودند (Mohamadi Dahcheshmeh *et al.*, 2015) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. تجمع رادیکالهای آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید و آب اکسیژنه در بدن موجودات زنده موجب آسیب های جدی و بروز

در واکنش به تنش خشکی شدید در مقایسه با توده شهرضا برخوردار بود. این دو صفت تحت تأثیر تنش ملایم قرار نگرفتند. تعداد کپسول در بوته و تعداد دانه در کپسول تعیین کننده قدرت مخزن در سیاهدانه و اجزای اصلی عملکرد دانه هستند و تحقیقات نشان می دهد که در شرایط تنش خشکی که فتوسنتز گیاه کاهش می یابد مواد پرورده کافی برای پر شدن دانه ها و حفظ کپسول در بوته در دسترس نیست و این امر توجیه کننده کاهش تعداد دانه در کپسول و کپسول در بوته است. تنش خشکی سبب کاهش معنی دار اجزای عملکرد دانه سیاهدانه مانند تعداد کپسول در بوته و دانه در کپسول شد (Rezaei Chiyaneh & Pirzad, 2014). محققان کاهش تعداد انشعابات گیاه سیاهدانه تحت تأثیر تنش خشکی را عامل اصلی کاهش تعداد کپسول در بوته بیان نمودند (Noorooz poor & Rezvani Moghadam, 2009). گزارش شده است که به دلیل محدود بودن رشد سیاهدانه، تنش خشکی باعث افزایش سرعت گذر از مرحله رویشی به زایشی، کاهش تعداد شاخه های فرعی، کاهش تعداد کپسول و دانه در کپسول می شود (Mozzafari *et al.*, 2000).

تنش خشکی ملایم، متوسط و شدید درصد اسانس هر دو توده کاشمر و شهرضا را در مقایسه با شاهد افزایش داد. میزان افزایش درصد اسانس در توده کاشمر بیش از توده شهرضا بود. با بررسی اثر تنش خشکی بر درصد اسانس سیاهدانه گزارش شده است که تنش خشکی افزایش درصد اسانس دانه سیاهدانه را به دنبال داشت (Rezapor *et al.*, 2011؛ Heidari & Jahantighi, 2014). تحقیقات نشان داد که کیفیت و کمیت اسانس گیاهان دارویی در واکنش به عوامل محیطی و ژنتیکی است و تنش های محیطی بر کیفیت و کمیت گیاهان دارویی اثرگذار هستند (Farhoudi *et al.*, 2013). عملکرد اسانس سیاهدانه در شرایط تنش ملایم افزایش و در شرایط تنش متوسط و شدید نسبت به شاهد به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۴). کاهش عملکرد اسانس در هنگام افزایش شدت تنش به دلیل کاهش معنی دار عملکرد دانه بود، به نحوی که افزایش درصد اسانس نتوانست

برخی از موارد تنش خشکی سبب شناسایی ترکیب هایی شد که در شرایط شاهد شناسایی نشده بودند (به عنوان مثال تری سیکلین، ۸،۱-سینتول و بتا-کاروفیلین در توده شهرضا و کامفن و میرسین در توده کاشمر). Mohamadi و Dahcheshmeh و همکاران (۲۰۱۵) ضمن مطالعه و شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس توده های سیاهدانه جمع شده از نقاط مختلف ایران، بیان نمودند که ترکیب هایی مانند آلفا-پینن، بتا-پینن، آلفا-توجن، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، آلفا-تریپنتول و تیموکینن اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس بیشتر توده های سیاهدانه بودند. آنان همچنین گزارش نمودند که ترکیب های آلفا-توجن و پارا-سیمن اجزای اصلی اسانس سیاهدانه بودند که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد. البته مقدار این دو ترکیب با توجه به توده مورد نظر متفاوت بود. مطالعات دیگر نیز ترکیب هایی مانند آلفا-پینن، بتا-پینن، آلفا-توجن، پارا-سیمن و تیموکینن را اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس سیاهدانه معرفی نموده اند اما نقش عواملی مانند شرایط محیطی رشد را در تغییرات درصد این اجزا اعلام نمودند (Fani, 2008; Faravani et al., 2006). ترکیب تیموکینن سیاهدانه در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Heidari & Jahantighi, 2014). نتایج این پژوهش نشان داد که توده کاشمر در شرایط نرمال و شرایط تنش خشکی از فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری در مقایسه با توده شهرضا برخوردار بود که دلیل آن را می توان بیشتر بودن درصد اجزای مهم و آنتی اکسیدان اسانس مانند آلفا-پینن، بتا-پینن، آلفا-توجن و پارا-سیمن بیان کرد. نکته قابل توجه آن است که میزان تیموکینون در اسانس توده کاشمر بسیار کمتر از توده شهرضا بود، در حالی که بسیاری از منابع این ترکیب را از اجزای اصلی اسانس سیاهدانه معرفی نموده اند. محققان بیان نمودند که نقش آنتی اکسیدانی اسانس سیاهدانه به دلیل حضور ترکیب هایی مانند پارا-سیمن، گاما-ترپینن و بتا-پینن است (Oroojalian et al., 2010).

به عنوان نتیجه گیری کلی باید گفت نتایج این تحقیق نشان دهنده این است که در شرایط تنش متوسط و شدید،

بیماری های مختلفی می شود، در حالی که گیاهان منبع غنی ترکیب های آنتی اکسیدان مانند ترکیب های فنلی می باشند که قادرند با حذف رادیکال های آزاد اکسیژن، محیط سلولی را پاکسازی نمایند (Benkaci-Ali et al., 2013; Mohamadi et al., 2015). در این پژوهش با افزایش درصد اسانس هر دو توده مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی، ویژگی آنتی اکسیدانی اسانس نیز افزایش یافت که بیانگر اثر افزایش ماده مؤثره در افزایش این ویژگی است. تنش خشکی شدید و متوسط باعث کاهش معنی دار محتوی نسبی آب، افزایش غلظت کربوهیدرات های محلول برگ و پرولین در هر دو توده شد. کاهش محتوی آب نسبی برگ در توده شهرضا بیشتر از توده کاشمر بود (جدول ۵). گیاهان برای تنظیم قابلیت اسمزی درون سلول در شرایط محیطی نامساعد مانند تنش خشکی، مواد محلول سازگار با وزن مولکولی کم مانند اسیدهای آمینه، قندها و اسیدهای آلی را تولید می نمایند. پرولین و کربوهیدرات های محلول برگ از عمده ترین این ترکیب ها بوده و نقش آنها در حفظ آماس سلول ها و سازگاری در شرایط تنش خشکی در بسیاری از تحقیقات گزارش شده است (Kakulvand et al., 2016; Movahhedy Dehnavy et al., 2002). تنش خشکی سبب افزایش غلظت کربوهیدرات های محلول و پرولین برگ سیاهدانه شد. پرولین اسید آمینه ای در محیط سیتوپلاسم سلول است که نقش مثبتی در جذب مولکول های آب در محیط سلول و کمک به حفظ آماس برگ ها و جذب آب توسط ریشه ها دارد (Rezapor et al., 2011). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که میزان غلظت کربوهیدرات های محلول برگ در توده کاشمر که در شرایط تنش خشکی شدید و متوسط از محتوی آب نسبی برگ، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک بیشتری برخوردار بودند بیشتر از توده شهرضا بود اما غلظت پرولین این دو توده در شرایط تنش خشکی شدید مشابه بود و تفاوت معنی داری نداشت. همانگونه که در نتایج بیان شد، افزایش میزان اسانس در شرایط تنش خشکی هر دو توده به دلیل افزایش درصد اسانس در شرایط تنش خشکی شدید بود (جدول ۶). در

- Benkaci-Ali, F., Asma, R., Boukenouche, R. and De Pauw, E., 2013. Chemical composition of the essential oil of *Nigella sativa* seeds extracted by microwave steam distillation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(6): 781-794.
- Bersuder, P., Hole, M. and Smith, G., 1998. Antioxidants from a heated histidineglucose model system I: investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 181-187.
- Dubois, M.K.A., Gilles, J.K., Hamilton, P.A. and Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- Fani, B., 2008. The Relationship between Water and Soil, and Crops of Buckwheat. University of Mashhad, 18p.
- Faravani, M., Razavi, S.A. and Farsi, M., 2006. Study of variation in some agronomic and anatomic characters of *Nigella sativa* landraces in Khorasan. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(3): 193-197.
- Farhoudi, R. and Makizadeh Tafti, M., 2013. Evaluation of drought stress effect on growth, yield, essential oil and chamazulene percentage of three chamomile (*Matricaria recutita* L.) cultivars in Khuzestan condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(4): 735-741.
- Farhoudi, R., Lee, D.J. and Hussain, M., 2013. Mild drought improves growth and flower oil productivity of german chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Essential oil Bearing Plants*, 17: 26-31.
- Haidari Sharif Abad, H., 1999. Plant, Drought. Publications of the Institute of Forestry and Rangeland Research, Tehran, 200p.
- Heidari, M. and Jahantighi, H., 2014. Evaluate effect of water stress and different amounts of nitrogen fertilizer on seed quality of black cumin (*Nigella Sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11(4): 640-647.
- Kakulvand, R., Fallah, S. and Abassi Sourki, A., 2016. Effects of species competition on photosynthetic pigments, proline relative water content, and essence fenugreek (*Trigonella foenum graceum*) and black cumin (*Nigella sativa* L.) under drought stress conditions in intercropping system. *Journal of Plant Process and Function*, 6(19): 255-270.
- Khooshbin, S., 2007. One Hundred Miraculous Plant. Donyaye nu Publication, 424p.
- Modhej, A. and Fathi, G., 2006. Wheat Physiology. Islamic Azad University, Shoushtar Branch, Publisher, 317p.

عملکرد دانه هر دو توده سیاهدانه به طور معنی دار کاهش یافت که این کاهش به دلیل کاهش تعداد کپسول در بوته، تعداد دانه در کپسول و عملکرد بیولوژیکی بود. توده شهرضا با توجه به واکنش تمام صفات وابسته به عملکرد دانه نسبت به توده کاشمر از حساسیت بیشتری به تنش خشکی برخوردار بود. تنش ملایم اثر معنی دار بر عملکرد دانه و اجزای آن نداشت. اگرچه درصد اسانس در شرایط تنش شدید افزایش یافت اما این افزایش مانع کاهش معنی دار عملکرد اسانس نشد. ویژگی آنتی اکسیدانی توده کاشمر در تمام شرایط بیش از توده شهرضا بود. در شرایط تنش خشکی شدید و متوسط توده کاشمر دارای میزان کربوهیدرات و پرولین بیشتری نسبت به توده شهرضا بود. این ویژگی باعث شد که توده کاشمر از محتوی نسبی آب بیشتر و شیب تغییرات عملکرد دانه و عملکرد اسانس کمتری نسبت به توده شهرضا برخوردار باشد. به طور کلی، در شرایط تنش ملایم به دلیل افزایش درصد اسانس و عدم کاهش معنی دار عملکرد دانه بیشترین عملکرد اسانس بدست آمد. از این رو به نظر می رسد اعمال تنش ملایم کنترل شده باعث افزایش عملکرد اسانس سیاهدانه بدون اثر بر عملکرد کمی می شود.

سپاسگزاری

این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی انجام شد، بدین وسیله از معاون محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر سپاسگزاری می شود.

منابع مورد استفاده

- Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M.H., Naderi hajibagher Kandy, M. and Moghadami, F., 2008. The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(4): 504-513.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.

- Food Chemistry, 120(3): 765-770.
- Petropoulos, S.A., Daferera, D., Polissiou, M. and Passam, H.C., 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Horticulture Science, 115(4): 393-397.
 - Rezaei Chiyaneh, E. and Pirzad, A., 2014. Effect of salicylic acid on yield, component yield and essential oil of black cumin (*Nigella sativa* L.) under water deficit stress. Iranian Journal of Field Crops Research, 12(3): 427-437.
 - Rezapour, A.R., Heidari, M., Galavi, M. and Ramrodi, M., 2011. Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grain yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(3): 384-396.
 - Shirazi, M.U., Ashraf, M.Y., Khan, M.A. and Nagvi, M.H., 2005. Potassium induced salinity tolerance in wheat. International Journal of Environment Science Technology, 2(3): 233-236.
 - Zarei, A., Zohrabi, S. and Boomeh, F., 2017. Evaluation of different growth stages of *Nigella sativa* L. and assessment of crop coefficient (Kc). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(4): 597-607.
 - Mohamadi Dahcheshmeh, N., Ghasemi Pirbaloti, A., Aghabarari, B. and Hamed, B., 2015. Essential oils, antibacterial properties and antioxidant activity of essential oil of *Nigella sativa* L. in different habitats of Iran. Eco-phytochemical Journal of Medical Plants, 12(4): 58-68.
 - Movahhedy Dehnavy, M., Modarres Sanavy, S.A.M., Soroushzadeh, A. and Jalali, M., 2002. Changes in proline, total soluble sugars, SPAD and chlorophyll fluorescence in winter safflower cultivars under drought stress and foliar application of zinc and manganese. Desert, 9(1): 95-109.
 - Mozzafari, F., Ghorbanli, S., Babai, M. and Farzami, A., 2000. The effect of water stress on the seed oil of *Nigella sativa* L. Journal of Essential Oil Research, 12: 36-38.
 - Noorooz poor, G. and Rezvani Moghadam, P., 2009. Effect of different irrigation intervals and plant density on yield and yield components of Black Cumin (*Nigella sativa*). Iranian Journal of Field Crops Research, 3(2): 305-315.
 - Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. and Bassami, M.R., 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on foodborne pathogens.

Effect of drought stress on seed yield, essential oil yield and ability of reactive oxygen species scavenging in *Nigella sativa* L. ecotypes

R. Farhoudi^{1*} and A. Modhej²

1*- Corresponding author, Department of Agronomy, Shoshtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
E-mail: rfarhoudi@gmail.com

2- Department of Agronomy, Shoshtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Received: December 2017

Revised: May 2018

Accepted: May 2018

Abstract

In order to investigate the effect of drought stress on grain and essential oil yield, antioxidant properties of essential oil, and accumulation of conformal osmolites in the leaves of two *Nigella sativa* L., this research was conducted at the research farm of Islamic Azad University, Shoushtar Branch during 2016-2017. The experiment was a split plot based on randomized complete block design with four replications. The main plot included four levels of irrigation including optimal irrigation, mild, moderate and severe stress (based on irrigation under 90, 80, 70 and 60% soil field capacity, respectively), and ecotypes of Kashmar and Shahreza were considered as subplots. Results indicated that the grain yield of Kashmar ecotype was reduced 2.4%, 20.2% and 40.1% under mild, moderate and severe stress compared to optimum conditions, respectively. The grain yield of Shahreza ecotype was reduced 6.2%, 38.1% and 63%, respectively. Reduction of grain yield under severe stress conditions was due to a significant decrease in the number of capsules and seeds per capsule. Essential oil yield of Kashmar and Shahreza ecotypes decreased by 18% and 54% in severe drought stress conditions, respectively. Kashmar ecotype had higher levels of carbohydrate and proline than those of Shahreza under stress conditions. This property caused the Kashmar ecotype to have more relative water content and lower slope change of grain yield and essential oil yield as compared with Shahreza. In normal conditions and severe drought stress, 85% and 93% of essential oil components of Kashmar and 82% and 93% essential oil components of Shahreza ecotype were identified, respectively. Drought stress increased the percentage of essential oil in both ecotypes and the essential oil of Kashmar contained more antioxidant. In general, under mild stress conditions, the highest essential oil yield was obtained due to an increase in essential oil content and no significant reduction in grain yield. Thus, it seems that the application of mild controlled stress improves the quality of *Nigella sativa* without affecting its quantitative performance.

Keywords: Antioxidant, -cymene, essential oil content, relative water content.