

## ارزیابی فیزیولوژیک تحمل به خشکی دو اکوتیپ زیره سبز تحت شرایط گلخانه

آزاده کریمی افشار<sup>۱\*</sup>، امین باقی زاده<sup>۱</sup> و قاسم محمدی نژاد<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۰)

### چکیده

خشکی دارای اثرهای مخربی بر رشد و تولید گیاه می‌باشد. گیاه به تنش خشکی در قالب فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک پاسخ می‌دهد. در این مطالعه، پاسخ فیزیولوژیک دو توده زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) متعلق به دو منطقه با آب و هوای متفاوت شامل راور از منطقه خشک و گنبد از منطقه نیمه مرطوب، به صورت آزمایش اسپلینت فاکتوریل با سه تکرار در شرایط کنترل شده گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب برگ، میزان آب از دست رفته برگ و نشت یونی اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای بین اکوتیپ‌ها وجود دارد. تنش خشکی در هر دو اکوتیپ به‌طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای نسبی آب و آب از دست رفته برگ شد؛ در حالی که افزایش نشت یونی را به‌دنبال داشت و بیشترین تغییرات در اکوتیپ گنبد دیده شد. اکوتیپ راور در مقایسه با اکوتیپ گنبد توان زیادی در مواجهه با تنش خشکی نشان داد، که می‌تواند به خاطر سازگاری بیشتر این ژنوتیپ با شرایط کم‌آبی باشد، و به این علت به‌عنوان اکوتیپ متحمل معرفی گردید. به‌طور کلی، صفات مورد بررسی به عنوان شاخص‌های مناسبی برای شناسایی اکوتیپ‌های متحمل به خشکی در مرحله گیاهچه و در شرایط گلخانه معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی

### مقدمه

تحمل متابولیک در سلول‌ها گردد و از آنجا که در گیاهان مختلف میزان تحمل متفاوت است، این تغییرات موجب کاهش رشد و در شرایط ویژه منجر به مرگ گیاه می‌گردد (۸). گیاهان برای مقابله با تأثیرات تنش، فعالیت‌های فیزیولوژیک، مکانیسم‌های متابولیک، بیان ژن و فعالیت‌های نموی را اصلاح کرده و تغییر می‌دهند (۴۲). مقاومت به خشکی یک صفت ساده و منحصر به فرد نبوده، بلکه ترکیبی از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک است که با میزان نسبی آب برگ، میزان نسبی آب از دست رفته، تجمع پرولین و آبسزیک اسید، فلورسنس کلروفیل، تنظیم اسمزی، اندازه ریشه و پارامترهای دیگر نظیر تبادل روزنه‌ای در ارتباط می‌باشد. صفات فیزیولوژیک اهمیت حیاتی در بقا و سازگاری گیاهان به

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را با محدودیت روبرو ساخته و یکی از مسائل عمده در کاهش عملکرد در کشاورزی، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان، می‌باشد (۷). تنش خشکی موجب بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن می‌گردد که این کاهش منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نهایت احیاء دی‌اکسید کربن به شدت کاهش می‌یابد (۱۵). اثر تنش خشکی به میزان و طول دوره آن، مرحله رشد گیاه، ظرفیت ژنوتیپی گونه‌ها و برهمکنش عوامل محیطی بستگی دارد (۲۰). وقوع تنش شدید و یا ادامه‌ی آن برای مدت طولانی، ممکن است منجر به ایجاد وضعیت غیرقابل

۱. دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید باهنر کرمان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Azadehkarimi.a@gmail.com

تنش‌های محیطی دارند و از این رو توجه به شاخص‌های فیزیولوژیک یکی از جنبه‌های مهم مطالعه مقاومت به خشکی در گیاهان محسوب می‌شود (۱۰، ۱۶، ۲۳ و ۳۹). بر اساس بسیاری از معیارهای مقاومت به تنش، مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در مقایسه با دیگر مراحل رشد گیاه، زمان مناسبی برای نشان دادن مقاومت ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی می‌باشند. شناسایی سریع مقاومت در این مراحل باعث صرفه‌جویی در زمان و امکانات آزمایشگاهی، تکرارپذیری زیاد و کنترل بهتر و مؤثرتر شرایط محیطی می‌شود (۲۱ و ۴۷).

فقدان شاخص مناسب برای انتخاب ژنوتیپ برتر مانعی جهت اجرای برنامه‌های اصلاح گیاهان برای تحمل به خشکی است. در میان ویژگی‌های فیزیولوژیک، وضعیت آب برگ، میزان آب از دست رفته و پایداری غشا از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. گزارش‌های متعددی بیان می‌کنند که محتوای نسبی آب برگ شاخص مناسبی برای بیان وضعیت آب در گیاهان بوده و وضعیت فراگیرتری از تعادل بین میزان عرضه نسبی آب برگ و میزان تعرق را نشان می‌دهد (۱۹ و ۳۳). بین محتوای نسبی آب برگ و غلظت کلروفیل و پروتئین و همچنین فعالیت رایسکو همبستگی مثبتی دیده شده که با توجه به نقش پروتئین و کلروفیل در حفظ فتوسنتز و مقاومت به خشکی، می‌توان از محتوای نسبی آب برگ به عنوان یک شاخص برای تحمل به خشکی استفاده کرد (۹).

محتوای نسبی آب برگ به دلیل وجود رابطه نزدیک با سرعت تعرق به عنوان یک شاخص قابل اطمینان برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی شناخته شده است. گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش محتوای نسبی آب در شرایط تنش خشکی در گیاهان مختلف وجود دارد. مون و آلگر (۲۶) با بررسی تأثیر تنش خشکی بر گیاهان دارویی رزماری و بادرنجبویه نشان دادند که محتوای نسبی آب برگ در این گیاهان به ترتیب به میزان ۴۰ و ۳۴ درصد نسبت به حالت طبیعی کاهش داشته است. همچنین، شونفلد و همکاران (۳۸) بیان کردند که با افزایش تنش رطوبتی، محتوای نسبی آب

برگ‌های گندم به دلیل کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش جذب آب از ریشه‌ها در شرایط خشک کاهش می‌یابد. فرشادفر و جوادی‌نیا (۲) نتیجه گرفتند که میزان آب از دست رفته به همراه محتوای نسبی آب گیاه جزو صفات فیزیولوژیک بودند که بیشترین تغییرات عملکرد بین ژنوتیپ‌های نخود را توجیه می‌کردند. استفاده از میزان آب از دست رفته گیاه به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک جهت انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی توسط محمدی و فرشادفر (۴) و شونفلد و همکاران (۳۸) نیز گزارش شده است.

سلول‌های گیاهی توسط غشاهای سلولی احاطه شده‌اند. یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد غشاها، نفوذپذیری انتخابی آن‌هاست که مانع از ایجاد تعادل بین سلول و محیط خارج سلولی می‌گردد. در شرایط تنش، به دلیل افزایش رونویسی ژن‌های دخیل در بیوسنتز آنزیم‌های مرتبط با پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش تولید انواع اکسیژن فعال، میزان آسیب به غشاهای سلولی افزایش می‌یابد که در نتیجه آن، نفوذپذیری انتخابی غشا کاهش یافته و باعث افزایش نشت الکترولیت می‌شود. از این رو، نشت الکترولیت به عنوان یکی از معیارهای مقاومت به خشکی، به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶). نشت الکترولیت جهت تشخیص ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و دمای زیاد توسط محققین دیگر (۳۰ و ۳۴) نیز به کار گرفته شده است. دلیری و همکاران (۱) در پژوهش خود نتیجه گرفتند که نشت الکترولیت متناسب با سطح تنش در ماریتیغال افزایش می‌یابد. آن‌ها همچنین نشان دادند که می‌توان از این صفت برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و ارزیابی تحمل به خشکی در مرحله گیاهچه‌ای بهره برد.

زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) گیاهی علفی از خانواده چتریان است که با داشتن دوره رشد کوتاه و مقدار مصرف کم آب، سازگاری زیادی جهت کاشت در مناطق خشک و نیمه خشک را دارد و کاشت آن در ایران به صورت دیم رایج است. این گیاه به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان صادراتی کشورهایی نظیر هند، ایران و دیگر کشورهای آسیایی

در این معادله،  $\psi_s$  پتانسیل آب (مگاپاسکال)،  $T$  دما (سلسیوس) و  $C$  مقدار پلی اتیلن گلیکول (گرم در لیتر) می باشد. غلظت مورد نظر در این پژوهش جهت دمای ۲۵ درجه سلسیوس تهیه شد.

نمونه برداری با ظهور علائم پژمردگی صورت گرفت. صفات فیزیولوژیک مورد ارزیابی شامل محتوای نسبی آب برگ (Relative water content, RWC)، نشت یونی (Electrolyte leakage, EL) و میزان نسبی آب از دست رفته برگ (Relative water loss, RWL) بود. به دلیل وجود واریانس درون و برای کاهش خطای نمونه برداری، از بالک برگها برای اندازه گیری کلیه صفات استفاده شد.

### محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ به روش اسمارت و بینگام (۴۱) و با اندکی تغییرات به صورت زیر اندازه گیری شد. یک سانتی متر از برگ بوته های هر تکرار جدا شده و در ویال هایی که از قبل توزین شده بودند قرار داده و سریعاً وزن تازه برگ (FW) محاسبه شد. جهت تعیین وزن تورژسانس (TW)، به مقدار مساوی آب مقطر استریل به ویال محتوی برگ اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. سپس، با قرار دادن نمونه ها در آون ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، وزن خشک (DW) به دست آمد و با استفاده از رابطه زیر مقدار RWC برای هر تیمار محاسبه شد:

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad [2]$$

### نشت یونی

اندازه گیری نشت یونی بر اساس روش لوتس و همکاران (۲۴) صورت گرفت. میزان مساوی از بالک برگها در هر تکرار پس از شستشو با آب دو بار تقطیر جهت حذف آلودگی های احتمالی، درون لوله های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل منتقل شده و جهت آماده سازی برای اندازه گیری  $EL_1$  نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر قرار

می باشد. زیره سبز پس از زعفران دومین گیاه صادراتی از نظر ارزش مالی بوده و به عنوان مهم ترین گیاه دارویی در کشور ما شناخته شده است (۳).

علی رغم اهمیت اقتصادی، دارویی و کشاورزی زیره سبز، مطالعات در باره تأثیر خشکی بر این گیاه، به ویژه خصوصیات گیاهی آن، اندک می باشد. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی پاسخ فیزیولوژیک دو اکوتیپ متفاوت زیره سبز به تنش خشکی تحت شرایط کنترل شده گلخانه و شناسایی اکوتیپ متحمل و حساس اجرا گردید تا با بررسی و شناسایی رونوشتها با بیان متفاوت در دو اکوتیپ، ژن های دخیل در تحمل به تنش در برنامه های اصلاح مولکولی مقاومت به خشکی مورد شناسایی قرار گیرند.

### مواد و روش ها

بذرهای یک شکل و سالم دو اکوتیپ زیره سبز، به منظور کم شدن اثر ترکیبات فنلی، به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل نگهداری و در ادامه با استفاده از اتانول ۷۵٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی و سپس به سرعت سه بار و هر بار به مدت دو دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. در هر گلدان حاوی پرلیت، ۴۰ عدد بذر در عمق ۱/۵ سانتی متری کشت گردید تا در صورت سبز نشدن برخی تکرارها، تعداد بذر کافی از هر اکوتیپ به مرحله رشدی مورد نظر برسد. گلدانها در گلخانه با دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد و فتوپریود ۱۶ ساعت قرار گرفته و دو بار در هفته به نسبت مساوی از آب و محلول غذایی هوگلند آبیاری و تغذیه شدند. مقدار ۴۰ گرم ماده پلی اتیلن گلیکول (PEG) ۶۰۰۰ حل شده در محلول غذایی هوگلند جهت اعمال تنش خشکی ۳۵- بار روی گیاهچه های ۲۱ روزه مورد استفاده قرار گرفت. پتانسیل صفر بار به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای تعیین میزان ماده PEG لازم از فرمول میچل و کافمن (۲۵) استفاده شد:

$$\psi_s = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.8 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T \quad [1]$$

خشکی طی مدت زمان پاسخ فعال به تنش (۲ ساعت و ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش خشکی) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. گیاهان تحت تیمار نرمال سبز باقی ماندند؛ در حالی که گیاهان تیمار شده با PEG پژمرده شده و در ادامه، طی ۴۸ ساعت بعد از اعمال تنش، دچار مرگ شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، بین اکوتیپ‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود دارد که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی لازم برای گزینش تحمل به خشکی می‌باشد (جدول ۱). اثر فاکتورهای آبیاری و زمان نمونه‌برداری بر صفات اندازه‌گیری شده نیز تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

### محتوای نسبی آب برگ

تغییرات محتوای نسبی آب برگ طی مدت زمان پاسخ فعال گیاهیچه به تنش خشکی برای دو اکوتیپ زیره سبز در شکل ۱ نشان داده شده است.

در نمونه برداری اولیه، محتوای نسبی آب در دو اکوتیپ حدود ۶۰٪ بود. دو ساعت بعد از اعمال تنش خشکی و به موازات ظهور علائم پژمردگی، محتوای نسبی آب برگ نیز به‌طور معنی‌داری در هر دو اکوتیپ در مقایسه با تیمار شاهد کاهش پیدا کرد. این میزان کاهش در اکوتیپ‌های راور و گنبد به ترتیب ۲۲٪ و ۳۱٪ بود. با گذشت ۲۴ ساعت از اعمال تنش، روند کاهش محتوای نسبی آب برگ ادامه داشت. اکوتیپ راور نسبت به تیمار نرمال کاهش ۳۷ درصدی را نشان داد. در حالی که میزان کاهش در اکوتیپ گنبد نزدیک به ۵۰٪ بود (شکل ۱). به‌طور کلی، درصد کاهش RWC در اکوتیپ گنبد در هر دو مرحله نمونه‌برداری چشمگیرتر بود.

محتوای نسبی آب برگ می‌تواند توانمندی گیاه در تحمل به تنش را به‌خوبی نشان دهد و کاهش این صفت یکی از مهم‌ترین تغییرات تنش خشکی است. ونگ و بوگرارا (۴۶) گزارش کردند که با اعمال تنش خشکی در گیاه *Festuca mairei*، گیاه وارد مرحله پژمردگی شده و محتوای نسبی آب آن کاهش یافت. کاهش RWC و بسته شدن روزنه‌ها

داده شدند. میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه EC سنج دیجیتالی قرائت شد. در مرحله بعد، لوله‌های آزمایش حاوی نمونه به مدت دو ساعت درون آون با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند که بعد از خنک شدن لوله‌ها مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و در نهایت درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد (داده‌های این صفت با واحد میکروزیمنس بر سانتی‌متر،  $\mu\text{S/cm}$ ، گزارش شدند):

$$EL = \frac{EL_1}{EL_2} \times 100 \quad [3]$$

### میزان نسبی آب از دست رفته برگ

میزان مساوی از بالک برگ برای هر تکرار سریعاً توزین شد تا وزن تر نمونه‌ها به‌دست آید. سپس، برگ‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا وزن پژمردگی آن‌ها تعیین گردد. جهت محاسبه وزن خشک، نمونه‌های برگ‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس در آون به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. میزان کاهش آب بر حسب گرم آب از دست رفته از وزن خشک برگ در دو ساعت از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۴۸):

$$RWL = \left( \frac{FW - WW}{DW} \right) \left( \frac{t_1 - t_2}{60} \right) \quad [2]$$

که در آن FW وزن تر برگ، WW وزن پژمردگی، DW وزن خشک،  $t_1$  زمان لازم برای پژمردگی و  $t_2$  زمان لازم برای خشک شدن است.

آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل، با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از صفات مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار SAS (۳۷) و رسم نمودارها در برنامه Excel 2010 انجام گرفت.

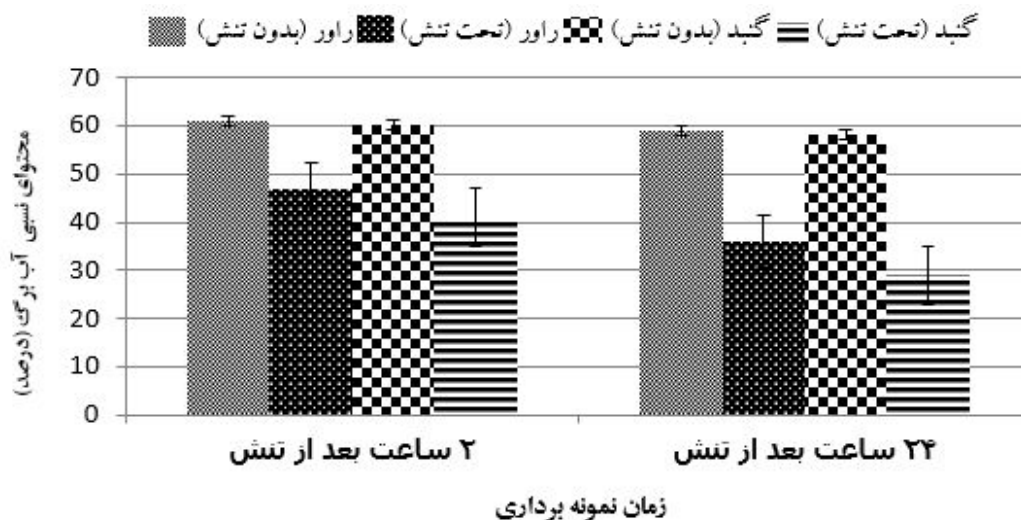
### نتایج و بحث

صفات فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب برگ، میزان آب از دست رفته برگ و نشت یونی جهت بررسی دقیق‌تر اعمال تنش

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده در اکوتیپ‌های زیره سبز تحت تنش خشکی

میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	میزان نسبی آب از دست رفته برگ	نشت یونی (μS/cm)
تکرار	۲	۵۳	۰/۱۷	۸۰/۶
آبیاری	۱	۲۰۹۰/۵*	۱۴/۳*	۴۸۴۰/۴**
تکرار (آبیاری)	۲	۳۸/۶	۰/۷۳	۹/۹
ژنوتیپ	۱	۱۵۲/۲*	۲/۳۹**	۲۴۵۰/۱**
زمان نمونه برداری	۱	۲۲۶/۹*	۰/۶*	۲۵۶۶/۸**
آبیاری × ژنوتیپ	۱	۶۵/۵ <sup>ns</sup>	۰/۱۶ <sup>ns</sup>	۷۶۳/۴**
آبیاری × زمان نمونه برداری	۱	۰/۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۲ <sup>ns</sup>	۱۲۳۱/۸**
ژنوتیپ × زمان نمونه برداری	۱	۲۰۳/۵*	۰/۰۱۲ <sup>ns</sup>	۲۴/۱ <sup>ns</sup>
ژنوتیپ × آبیاری × زمان نمونه برداری	۱	۱۹۱/۵*	۰/۰۲۱ <sup>ns</sup>	۱۳۲/۸ <sup>ns</sup>
ضریب تغییرات (%)	-	۸/۶	۸/۳	۹/۹

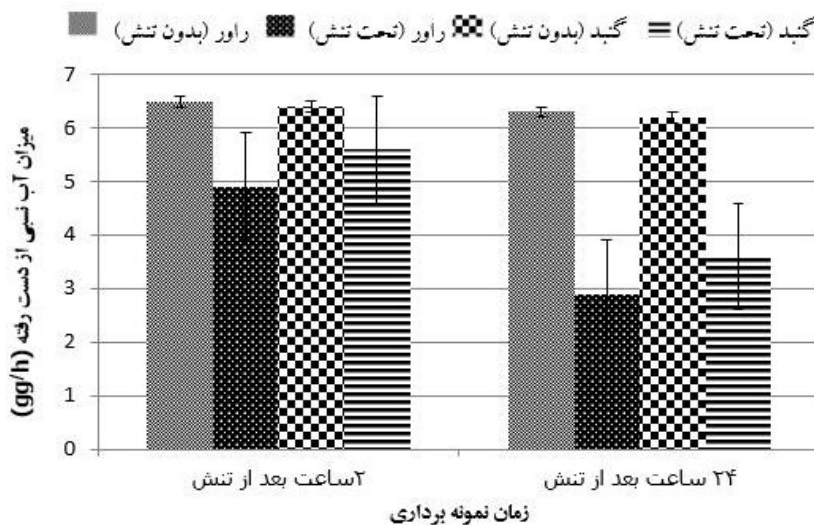
\*\*، \* و ns به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار



شکل ۱. تغییرات محتوای نسبی آب در اکوتیپ‌های متفاوت زیره سبز تحت تنش خشکی

محتوای نسبی آب ارقام حساس به خشکی در مقایسه با ارقام متحمل، در شرایط تنش اسمزی، کاهش بیشتری پیدا می‌کند (۳۲). مطالعات سایر ام و سریواستاوا (۳۵) روی دو رقم گندم نشان داد که کاهش مقدار نسبی آب برگ در رقم مقاوم کمتر بوده است. کاهش RWC با بیشتر شدن مدت زمان تنش توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (۲۹ و ۴۰). به نظر می‌رسد گیاهانی که تحت تنش خشکی قرار

اولین تأثیر تنش خشکی بوده که در نتیجه آن میزان دی‌اکسید کربن درون سلولی کاهش یافته و از طریق اختلال در ساخت مواد فتوسنتزی و کاهش ساخت و ساز در برگ موجب کاهش میزان عملکرد می‌شود (۴۳ و ۴۴). نایدو و همکاران (۲۷) با مقایسه ژنوتیپ‌ها نشان دادند که ژنوتیپ‌هایی که در شرایط تنش محتوای نسبی آب زیادی داشتند، از عملکرد دانه زیادتری نیز برخوردار بودند.



شکل ۲. تغییرات میزان آب از دست رفته از برگ در دو اکوتیپ زیره سبز تحت تنش خشکی

بستن روزنه‌ها می‌باشد که منجر به افزایش دمای کانوپی و کاهش میزان آب از دست رفته برگ می‌شود. از آنجا که ارقام متحمل کنترل بیشتری بر باز و بسته کردن روزنه‌ها دارند، میزان تعرق در این ارقام و آب از دست رفته برگ کمتری خواهند داشت که با یافته‌های حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (۱۷).

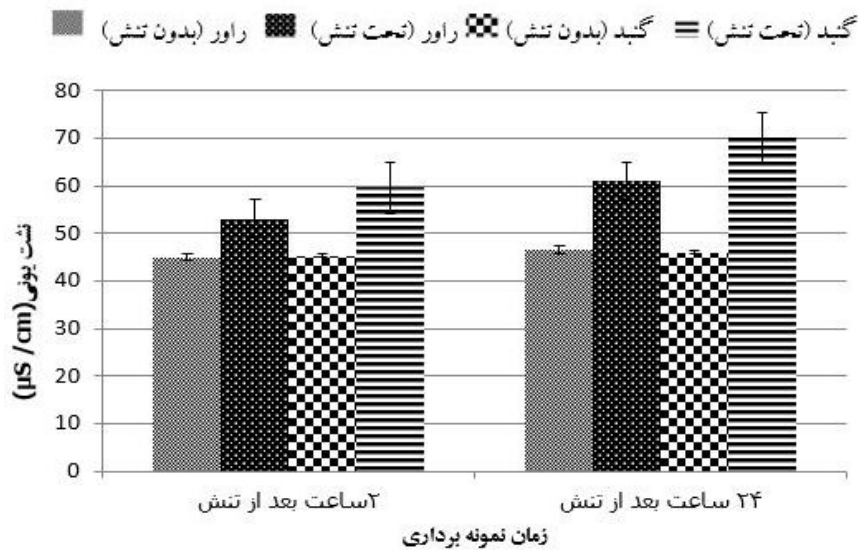
### نشت یونی

برای شناسایی اکوتیپ متحمل به خشکی، از آزمایش حساسیت غشاء سیتوپلاسمی برگ استفاده شد. طبق نتایج، بین اکوتیپ‌های مورد بررسی از نظر نشت یونی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). تنش خشکی میزان نشت یونی را افزایش داد. این افزایش در ژنوتیپ راور بسیار کمتر از ژنوتیپ گنبد می‌باشد (شکل ۳). افزایش نشت یونی در اکوتیپ راور در ۲ و ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش نسبت به تیمار نرمال به ترتیب ۱۱/۷٪ و ۱۳/۳٪ بود. در حالی که در اکوتیپ گنبد، مقدار افزایش در مدت زمان مذکور به ترتیب ۱۳/۱٪ و ۱۶/۲٪ نسبت به شرایط طبیعی می‌باشد. با توجه به این که مقدار نشت یونی رابطه عکس با پایداری غشاء سیتوپلاسمی دارد، می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ گنبد با داشتن نشت یونی بیشتر، از پایداری غشاء سیتوپلاسمی کمتری برخوردار است. در نتیجه،

می‌گیرند، فضای بین سلولی و میزان آب در پیکره خود را از طریق افزایش مواد اسمزی در درون بافت‌ها به حداقل می‌رسانند تا آب از بافت خاک با نیروی بیشتری وارد آن‌ها شود که این امر موجب کاهش میزان نسبی آب در شرایط تنش خشکی می‌گردد؛ در نتیجه، قابلیت دسترسی به آب برای فرایندهای توسعه سلول را محدود می‌کند. همچنین، محققین در مطالعات خود کاهش رشد و فعالیت ریشه و افزایش میزان تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی را نیز از عوامل مؤثر در کاهش محتوای نسبی آب در مواجهه با تنش خشکی معرفی نموده‌اند (۴۵).

### میزان آب از دست رفته

نمودار تغییرات میزان آب از دست رفته در پاسخ به خشکی برای دو اکوتیپ زیره سبز مورد بررسی در شکل ۲ نشان داده شده است. تنش خشکی باعث کاهش میزان آب از دست رفته در دو اکوتیپ شد و روند کاهش در اکوتیپ گنبد به نسبت اکوتیپ راور بیشتر بوده. کاهش شاخص آب از دست رفته از برگ در اثر تنش خشکی در گندم توسط گلستانی و آسادی (۱۳) نیز گزارش شده است. این محققین نشان دادند که مقدار کاهش RWL در ارقام مقاوم کمتر می‌باشد. یکی از مکانیسم‌های اصلی مقاومت به خشکی در گیاهان، کاهش میزان تعرق از طریق



شکل ۳. تغییرات نشت یونی در دو اکوتیپ زیره سبز تحت تنش خشکی

باشند تا بتوانند از آسیب به نقاط کلیدی متابولیسم، از جمله غشاها، پیشگیری کنند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به چرخه‌های گزانتوفیل (۲۸)، مسیر آلترناتیو اکسیداز (۱۱) و همچنین میزان پرولین موجود در سلول (۵) و (۳۶) اشاره کرد. عملکرد مطلوب این مکانیسم‌ها سبب کاهش آسیب وارده به غشاها و در نتیجه کم شدن نشت الکترولیت خواهد شد. به همین علت، محققین ثبات غشای سلولی تحت شرایط تنش رطوبتی را به عنوان یک جزء اصلی تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل مطرح کرده‌اند (۱۸ و ۳۱) که این مورد را می‌توان در اکوتیپ راور مشاهده نمود.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاضر بر اساس بررسی صفات محتوای نسبی آب، میزان آب از دست رفته برگ و نشت یونی نشان داد که این صفات به خوبی توانستند دو اکوتیپ زیره سبز را از نظر تحمل به خشکی متمایز کرده و اکوتیپ راور را به عنوان ژنوتیپ برتر در مواجهه با تنش خشکی در مرحله گیاهیچه معرفی کنند. از سوی دیگر، این نتایج بر کاربردی بودن صفات مورد بررسی در ارزیابی تحمل به خشکی، به‌ویژه در شرایط گلخانه، تأکید می‌کنند. در این آزمایش، ژنوتیپ راور ضمن حفظ محتوای نسبی آب در

این رقم تحمل کمتری در برابر خشکی دارد. افزایش نشت یونی به دلیل خسارت وارده به غشاء سلولی و کاهش مقاومت آن در آزمایش‌های گونش و همکاران (۱۴) و فرشادفر و جوادی‌نیا (۲) نیز گزارش شده است. کوچوا و گئورگیو (۱۸) در ارزیابی مقاومت به خشکی ارقام جو، تخریب کمتری در غشاهای سلولی ارقام مقاوم به خشکی مشاهده کردند.

از آنجا که غشای پلاسمایی از اولین بخش‌های گیاهی است که تحت تنش رطوبتی آسیب می‌بیند (۲۲)، حفظ انسجام غشا و جلوگیری از واپاشیدگی آن یکی از راهکارهای مهم در اصلاح برای افزایش تحمل به خشکی محسوب می‌شود. در شرایط تنش خشکی، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های اکسیژن افزایش می‌یابد (۱۲) که به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه می‌زنند. با تغییر ساختمان غشا، در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها، تراوایی غشای سلولی را افزایش می‌دهند که منجر به نشت الکترولیت‌های موجود از داخل سلول به سمت بیرون می‌شود و در نتیجه رشد گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. سلول‌های گیاهی باید از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای برخوردار

تحمل به تنش برآیند صفات مهم زیادی می‌باشد، ژنوتیپی مناسب است که بتواند تحت شرایط تنش در بیشتر صفات برتری نشان دهد. لذا، ژنوتیپ راور به عنوان یک ژرم‌پلاسم متحمل به خشکی جهت جداسازی ژن‌های تحمل به تنش معرفی می‌شود و با توجه به پاسخ متفاوت دو ژنوتیپ به تنش خشکی، پیشنهاد می‌شود تا در مطالعات بعدی جهت بررسی‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرد.

مواجهه با تنش خشکی، میزان آب از دست رفته از برگ را کاهش داد، که نشان‌دهنده اهمیت این ژنوتیپ در حفظ پتانسیل آب موجود در شرایط تنش و در نتیجه تحمل بیشتر این ژنوتیپ به تنش کم‌آبی، در مقایسه با ژنوتیپ گنبد، می‌باشد. از طرف دیگر، این ژنوتیپ تحت تنش شدید ۳۵- بار میزان نشت یونی کمتری نیز داشت. در واقع، به دلیل این که ژنوتیپ راور انسجام غشای سلولی خود را پس از مواجهه با تنش آبی بهتر حفظ کرده، نشت مواد کمتری به بیرون داشته است. از آنجا که

### منابع مورد استفاده

- دلیری، ر.، ج. شکرپور، ع. اصغری، ع. اسفندیاری و ر. سید شریفی. ۱۳۸۹. ارزیابی اکوتیپ‌های مختلف ماریتیغال از نظر مقاومت به خشکی در محیط کشت هیدروپونیک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۱: ۹-۱۷.
- فرشادفر، ع. و ج. جوادی‌نیا. ۱۳۹۰. ارزیابی ژنوتیپ‌های نخود از نظر تحمل به خشکی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۲۷: ۵۱۷-۵۳۷.
- کافی، م. ۱۳۸۱. زیره سبز: فناوری تولید و فرآوری. انتشارات دانشگاه مشهد.
- محمدی، ر. و ع. فرشادفر. ۱۳۸۲. تعیین کروموزوم‌های کنترل کننده صفات فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به خشکی در چاودار. مجله علوم زراعی ایران ۵: ۱۱۷-۱۳۲.
- معصومی، ع.، م. کافی، ج. نباتی، ح. ر. خزاعی، ک. داوری و م. زارع مهرجردی. ۱۳۹۱. اثر تنش خشکی بر وضعیت آبی و نشت الکترولیت برگ، فتوسنتز و فلورسانس کلروفیل در مراحل مختلف رشدی دو توده کوشیا (*Kochia scoparia*) در شرایط شور. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۰ (۳): ۴۷۶-۴۸۴.
- Beltrano, J. and M.G. Ronco. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Braz. J. Plant Physiol.* 20: 29-37.
- Blum, A. 2011. Drought resistance- is it really a complex trait? *Funct. Plant Biol.* 38: 753-757.
- Bohnert, H.J., D.E. Nelson and R.G. Jensen. 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell.* 7: 1099-1111.
- Castrillo, M. and I. Turujillo. 1994. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetica J.* 30: 175-181.
- Cattivelli, L., F. Rizza, F.W. Badeck, E. Mazzucotelli, A.M. Mastrangelo, E. Francia, C. Marè, A. Tondelli and A.M. Stanca. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Res.* 105: 1-14.
- Edreva, A. 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. *Agric. Ecosys. Environ.* 106: 119-133.
- Foyer, C.H., M. Leadis and K.J. Kunert. 1994. Photo oxidative stress in plants. *Plant Physiol.* 92: 696-717.
- Golestani, S. and M.T. Assad. 1998. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat. *Euphytica* 103: 293-299.
- Gunes, A., A. Adak, M.S. Bagci, E.G. Cicek and F. Ersalan. 2008. Effect of drought stress implemented at pre-or post-anthesis stage on some physiological parameters as screening criteria in chickpea cultivars. *Russ. J. Plant Physiol.* 55(1): 59-67.
- Hu, Y. and U. Schmidhalter. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168: 541-549.
- Jia, J., J. Fu, J. Zheng, X. Zhou, J. Huai, J. Wang, M. Wang, Y. Zhang, X. Chen, J. Zhang, J. Zhao, Z. Su, Y. Lu and G. Wang. 2006. Annotation and expression pattern analysis of 2073 full-length cDNAs from stress-induced maize (*Zea mays* L.) seedlings. *The Plant J.* 48: 710-727.

17. Karimizadeh, R. and M. Mohammadi. 2011. Association of canopy temperature depression with yield of durum wheat genotypes under supplementary irrigated and rainfed conditions. *Aust. J. Crop Sci.* 5(2): 138-146.
18. Kocheva, K. and G. Georgieva. 2003. Evaluation of the reaction of two contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG6000. *J. Plant Physiol.* 12: 290-294.
19. Kumar, A. and D.P. Singh. 1998. Use of physiology indices as screening technique for drought tolerance in oil seed Brassica species. *Ann. Bot.* 81: 413-420.
20. Leung, J. and J. Griaudat. 1998. Abscisic acid signal transduction. *Plant Physiol.* 49: 199-222.
21. Li, Y., J. Ma, H.Z. Wang, R.P. Zhang and X.Y. Li. 2005. Studies on screening of the drought resistance assessment indexes and comprehensive evaluation of rice varieties during seedling stage. *Southwest China J. Agric. Sci.* 18: 250-255.
22. Liang, Y., Q. Chen, Q. Liu, W. Zhang and R. Ding. 2003. Exogenous silicone (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Plant Physiol.* 160: 1157-1164.
23. Ludlow, M.M. and R.C. Muchow. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Adv. Agron.* 43: 107-153.
24. Lutts, S., J.M. Kinet and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.* 78: 389-398.
25. Michel, B.E. and M.R. Kaufman. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914-916.
26. Munne-Bosch, S. and L. Alegre. 1999. Role of dew on the recovery of water stressed *Melissa officinalis* L. plants. *J. Plant Physiol.* 154(5-6): 759-766.
27. Naidu, T., N. Raju and A. Narayanan. 2001. Screening of drought tolerance in greengram (*Vigna radiata* L. Wilczek) genotype under receding soil moisture. *Indian J. Plant Physiol.* 6: 197-201.
28. Ort, D. 2001. When there is too much light? *Plant Physiol.* 125: 29-32.
29. Paknejad, F., M. Heravan, Q. Noormohammadi, A. Siadat and S. Vazan. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *Am. J. Biochem. Biotech.* 5: 162-169.
30. Rahman, H.U., S.A. Malik and A. Saleem. 2003. Heat tolerance of upland cotton during the fruiting stage using membrane thermostability. *Field Crops Res.* 85: 149-158.
31. Raison, J.K. J.A. Berry, P.A. Armond and C.S. Pike. 1980. Membrane properties in relation to the adaptation of plants to temperature stress. PP. 261-273. In: Turner, N.C. and P.J. Kramer (Eds.), *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*, Wiley-Interscience, New York.
32. Ramirez-Vallejo, P. and J.D. Kelly. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99: 127-136.
33. Ritchie, S.W., H.T. Nguyen and A.S. Holaday. 1990. Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci.* 30: 105-111.
34. Saelim, S. and J.J. Zwiazek. 2000. Preservation of thermal stability of cell membranes and gas exchange in high temperature acclimated *Xylia xylocarpa* seedlings. *J. Plant Physiol.* 156: 380-385.
35. Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes to long term salt stress. *Plant Sci.* 162: 897-904.
36. Saneoka, H., R.E.A. Moghaieb, G.S. Premachandra and K. Fujita. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relation in *Agrostis palustris* Huds. *Environ. Exp. Bot.* 52: 131-138.
37. SAS Institute. 2001. User's guide. Release 8.2, PP. 225-293, SAS Institute, Cary, NC.
38. Schonfeld, M.A., R.C. Johnson, B.F. Carver and D.W. Mornhinweg. 1988. Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. *Crop Sci.* 28: 526-531.
39. Shinozaki, K. and K. Yamaguchi-Shinozaki. 1997. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiol.* 115: 327-334.
40. Si, Y., C. Zhang, S. Meng and F. Dane. 2009. Gene expression changes in response to drought stress in *Citrullus colocynthis*. *Plant Cell Rep.* 28: 997-1009.
41. Smart, R.E. and G.E. Bingham. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiol.* 53: 258-260.
42. Thippeswamy, N.B. and A. Naidu. 2005. Antioxidant potency of cumin varieties-cumin, black cumin and bitter cumin-on antioxidant systems. *Eur. Food Res. Technol.* 220: 472-476.
43. Unyayar, S., Y. Kele and E. Unal. 2004. Proline and ABA levels in two sunflower genotypes subjected to water stress. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30: 34-47.
44. Vazan, S., Z. Ranji, M.H. Houshdar Tehrani, A. Ghalavand and M. Sanei Shariat Panahi. 2002. Drought stress effect on abscisic acid accumulation and stomatal conductivity of sugar beet. *Iranian J. Agric. Sci.* 4(3): 176-184.
45. Venkateswarlu, B. and K. Ramesh. 1993. Cell membrane stability and biochemical response of cultured cells of

- groundnut under polyethylene glycol-induced water stress. *Plant Sci.* 90: 179-185.
46. Wang, J.P. and S.S. Bughrara. 2007. Monitoring of gene expression profiles and identification of candidate genes involved in drought responses in *Festuca mairei*. *Mol. Genet. Genomics* 277: 571-587.
47. Xie, J.K., B.L. Hu, Y. Wan, T. Zhang, X. Li, R.L. Liu, Y.H. Huang, L.F. Dai and X.D. Luo. 2010. Comparison of the drought resistance characters at seedling stage between Dongxiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and cultivars (*Oryza sativa* L.). *Acta Ecol. Sinica* 30: 1665-1674.
48. Yang, R.C., S. Jana and J.M. Clarke. 1991. Phenotypic diversity and associations of some potentially drought-responsive characters of durum wheat. *Crop Sci.* 31: 1484-1491.