فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال سیزدهم، شماره ۳، تابستان ۱۴۰۰ ص. ۳۰-۲۳

مقاله پژوهشی

تغییرات درصد جوانه‌زنی و ویژگی‌های روزنه برگ گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) در پاسخ به تنش‌های خشکی و شوری

شیوا آقاجان‌زاده قشلاقی[۱]، مریم پیوندی[۱*]، احمد مجد[۱]، حسین عباسپور[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

[*] (نویسنده مسئول مکاتبات): m_peyvandi@iau-tnb.ac.ir

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۹

چکیده

گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی علفی، یک ساله با خواص دارویی و اقتصادی ارزشمند متعلق به تیره آلاله می‌باشد. با توجه به اهمیت اقتصادی و دارویی این گیاه و جدی بودن معضلات شوری و خشکی در ایران، در این پژوهش مطالعه تاثیر تنش‌های شوری و خشکی بر درصد جوانه‌زنی و تغییرات روزنه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه در سطوح مختلف تنش خشکی (آبیاری دو روز و سه روز درمیان) و شوری (تیمار با محلول ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار NaCl) انجام شد. آزمایش با طرح بلوک های کاملا تصادفی اجراشد. صفات روزنه‌ای برگ، دوماه پس از اعمال تیمار با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد افزایش تنش خشکی و شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی شد. همچنین تنش خشکی تاثیر بیشتری بر کاهش ابعاد روزنه داشت. به طوریکه قطر دستگاه روزنه‌ای و طول منفذ کاهش معنی‌داری نشان دادند و روزنه‌ها به صورت دراز و کشیده شدند که نشان از تاثیر تنش خشکی بر بسته شدن بیشتر روزنه‌ها در طی خشکی سه روزه بوده است. همچنین تنش شوری شدید (۶۰ میلی مولار NaCl) موجب افزایش معنی دار عرض منفذ گردید و بر سایر خصوصیات روزنه‌ای تاثیر معنی‌داری نداشت. تنش‌های خشکی و شوری اعمال شده افزایش معنی‌داری در تعداد روزنه‌ها نشان ندادند و واکنش روزنه‌ای گیاه سیاه دانه نسبت به شرایط تنش خشکی بیشتر از تنش شوری بود.

کلیدواژه‌ها: خشکی، درصد جوانه‌زنی، روزنه، سیاه‌دانه، شوری.

مقدمه

بررسی تنش‌های محیطی اعم از زیستی و غیرزیستی، به‌عنوان تهدید جدی در کاهش جهانی محصولات کشاورزی و افزایش هزینه‌های اقتصادی در سراسر دنیا، اهمیت ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است. از این میان خشکی و شوری در کنار تنش‌های غیرزیستی دیگر مانند سرما و گرما از مهمترین عوامل محدود کننده می‌باشند [۱]. امروزه با استفاده‌ی بی‌رویه از منابع طبیعی و توسعه‌ی

تکنولوژی‌های مرتبط با آبیاری، پدیده‌ی شوری خاک در مناطق خشک به سرعت در حال همه‌گیر شدن در بخش زیادی از زمین‌های کشاورزی می‌باشد [۲]. در ایران نیمی از زمین‌های زراعی قابل کشت (۹/۵ میلیون هکتار)، دستخوش شوری شده‌اند.

بررسی تحمل به خشکی و شوری گیاهان دارویی به عنوان یکی از محصولات بخش کشاورزی، در مناطق خشک و نیمه خشک دارای اهمیت بسیار زیادی است [۳]. سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دولپه، یکساله، علفی، متعلق به تیره آلاله و بومی غرب آسیا می‌باشد که در بیشتر مناطق اروپا، آسیا و ایران گسترش دارد [۴]. دانه‌ی این گیاه غنی از اسیدهای چرب لینولئیک، اولئیک و پالمیتیک اسید، ترکیبات کینونی و نیژلون می‌باشد. این ترکیبات ارزشمند سبب شده است که خواص مختلف دارویی از قبیل درمان افسردگی، دیابت، نارسایی کلیه، بیماری‌های معده، کمردرد، سردرد، ضدسرطانی و میکروبی، کرم‌کش، ملین و شیرافزا به آن نسبت داده شود [۵]. تاثیر منفی تنش‌های خشکی و شوری بر جوانه‌زنی، رشد و نمو گیاهچه‌ها معمولا با واسطه‌ی سمیت عناصر، اختلال در جذب عناصر و کاهش پتانسیل آب صورت می‌گیرد [۶]. تعداد گیاهان در واحد سطح در کشاورزی دارای اهمیت بسیار زیادی می‌باشد. به این منظور، اطلاع دقیق از درصد جوانه‌زنی برای محاسبه تعداد بذر در واحد سطح بسیار مفید می‌باشد. تنش خشکی که نتیجه‌ی بالاتر بودن دفع آب نسبت به جذب است، موجب کاهش جذب آب، کاهش تجزیه مواد ذخیره‌ای بذر و مختل شدن سنتز پروتئین‌های ذخیره‌ای می‌شود که در نهایت کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها را در پی دارد [۷]. تنش شوری نیز پس از تنش خشکی، از معظلات اصلی کشت و پرورش گیاهان دارویی در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد. بالاترین میزان حساسیت به شوری در هنگام جوانه‌زنی اتفاق می‌افتد که در بیشتر موارد ناشی از سمیت عناصر و کمبود عناصر مغذی مثل Ca و K می‌باشد [۸]. به این دلیل از تاثیر شوری و خشکی بر درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌توان به عنوان شاخص مهم در تعیین بردباری گونه‌های گیاهی در مقابل این تنش‌ها استفاده کرد [۹]. بر این اساس، بررسی‌های مختلف بر روی گیاهان دارویی مثل ختمی، بارهنگ، مریم گلی، زیره اثرات بازدارنده‌ی تنش شوری و خشکی بر درصد جوانه‌زنی را نشان دادند [۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳].

یکی از عوامل مهم تاثیرگذار در از دست دادن آب گیاه، روزنه‌ها می‌باشند که در شرایط تنش خشکی با بسته شدن، از تلفات آب جلوگیری می‌نمایند. تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها فرآیند فیزیولوژیکی مهم در شرایط تنش خشکی و شوری می‌باشد به طوریکه عدم توانایی بسته شدن روزنه‌ها در برخی گیاهان حساس به شوری مشاهده می‌شود. میزان بالای شوری عموما موجب افزایش تعداد روزنه‌ها، طول روزنه و عرضه روزنه می‌شود [۱۴].

با در نظر گرفتن اینکه در بیشتر پژوهش‌ها، تنها به بررسی تاثیر یکی از تنش‌های خشکی یا شوری بر روی گیاه سیاه‌دانه پرداخته شده است، در این مطالعه مقایسه تاثیر تنش‌های خشکی و شوری بر درصد جوانه‌زنی و تغییرات روزنه‌ای این گیاه ارزشمند مورد توجه قرار گرفته است.

با توجه به اهمیت اقتصادی و دارویی گیاه سیاه‌دانه، مطالعه تاثیر تنش‌های شوری و خشکی بر درصد جوانه‌زنی و واکنش روزنه‌ای این گیاه مفید می‌تواند در مدیریت و توسعه کشت آن مورد توجه و استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر و شرایط کشت: بذر سیاه دانه از شرکت پاکان اصفهان تهیه شد و بعد از ضدعفونی با محلول آب ژاول به صورت مستقیم در گلدان و در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی و با استفاده از ۵ گروه و هر کدام با سه تکرار کشت شد. بذرهای ضدعفونی شده به صورت مستقیم در ۱۵ گلدان (۵ گروه، هر کدام سه تکرار) به قطر ۲۵ سانتی‌متر کشت داده شدند. گلدان‌ها در محل گلخانه مرکز ژنتیک کرج نگهداری و هر روز آبیاری گردید. از محلول غذایی هوگلند نیز برای تغذیه گیاهان استفاده شد.

اعمال تیمار: تیمارها، یک ماه پس از رشد گیاهان آغاز گردید به این ترتیب که تیمار اول با آبیاری هر روزه به عنوان

تیمار شاهد در نظر گرفته شد. در تیمار دوم آبیاری به صورت دو روز یک بار صورت گرفت و در تیمار سوم آبیاری به صورت ۳ روز در میان انجام گردید. در تیمار های چهارم و پنجم آبیاری به صورت هر روزه انجام شد وگیاهان به ترتیب بامحلول های(NaCl: 30, 60 mM) تیمار شدند.

جوانه‌زنی: به منظور بررسی تاثیر تنش‌های خشکی و شوری بر جوانه‌زنی گیاه سیاه‌انه، از ۵ گروه و هر کدام در سه تکرار و برای هر تکرار از ظرف پتری دیش حاوی ۱۰ عدد بذر استفاده شد. گروه‌های مورد ازمایش شامل یک گروه شاهد، دو گروه با تیمار خشکی (دو و سه روزه) و دو گروه با تیمار شوری (۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار NaCl) بود. به منظور سترون کردن محیط، پتری‌دیش‌ها و کاغذ واتمن (به عنوان بستر بذر) به مدت ۲ ساعت در اتوملاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. همچنین بذرها با محلول هیپوکلیرت سدیم ۳ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی و پس از آن چندبار با آب مقطر شستشو گردیدند. برای تیمار شاهد آبیاری هر روزه با آب مقطر صورت گرفت. بذرها به طور روزانه بازبینی و تعداد بذرهای جوانه‌زده (دارای طول ریشه‌چه ۱-۲ میلی‌متر و یا بیشتر) ثبت شد [۱۵].

تغییرات روزنه‌ای: به منظور بررسی تغییرات روزنه‌ای، دو ماه پس از اعمال تیمارهای مورد نظر، برگ گیاه به منظور بررسی صفات روزنه‌ای جدا گردید و با استفاده از میکروسکوپ نوری صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و رسم نمودار با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS ver. 19 و Sigmaplot ver 7 صورت گرفت. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

جوانه زنی:

نتایج حاصل از بررسی‌های آماری بیانگر تفاوت معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر در بین تیمارهای خشکی و شوری اعمال شده بود. بر این اساس کاهش درصد جوانه‌زنی در تمامی تیمارهای اعمال شده به غیر از تیمار دو روز خشکی مشاهده گردید. بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به گروه شاهد و کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار شوری ۶۰ میلی مولار NaCl) (جدول ۱) بود. بر اساس گروه‌بندی دانکن تیمارهای اعمال شده در چهار دسته قرار گرفتند. گروه شاهد به طور مجزا در دسته اول قرار گرفت. تیمار دو روز خشکی به طور مشترک در دسته اول و دوم، تیمار شوری با غلظت ۳۰ میلی مولار (NaCl) به طور مشترک در گروه دوم و سوم، تیمار سه روز خشکی به طور مشترک در گروه سوم و چهارم، قرار گرفتند. تیمار شوری با غلظت ۶۰ میلی‌مولار (NaCl) به طور مستقل در گروه چهارم قرار گرفت (جدول ۱). به این ترتیب تیمار دو روز خشکی تاثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد ایجاد نکرد.

جدول۱. میانگین (±SE) درصد جوانه‌زنی، قطر دستگاه روزنه ای، طول و عرض منفذ، طول سلول نگهبان، تعداد روزنه در واحد سطح برگ گیاه سیاه دانه تحت تیمارهای خشکی (۲ روزه و ۳ روزه) و شوری (۱/۷۵ گرم بر لیتر، ۳/۵ گرم بر لیتر NaCl) دو ماه پس از آغاز تیمار.

تیمار	درصد جوانه‌زنی (%)	قطر دستگاه روزنه‌ای (mm)	طول منفذ (mm)	عرض منفذ (mm)	طول سلول‌های نگهبان (mm)	تعداد روزنه در واحد سطح
شاهد	100 ± 0^{a}	0.14 ± 0.002^{a}	0.12 ± 0.03^{a}	0.03 ± 0.002^{b}	0.16 ± 0.003^{a}	17.37 ± 5.71^{a}
دو روز خشکی	83.33 ± 3.33^{ab}	0.14 ± 0.002^{a}	0.1 ± 0.002^{abc}	0.04 ± 0.001^{ab}	0.16 ± 0.002^{a}	33.41 ± 10.02^{a}
سه روز خشکی	60 ± 0^{cd}	0.12 ± 0.002^{b}	0.07 ± 0.002^{c}	0.03 ± 0.001^{b}	0.13 ± 0.002^{b}	34.5 ± 11.96^{a}
NaCl: 30mM	73.33 ± 8.81^{bc}	0.12 ± 0.003^{b}	0.08 ± 0.003^{bc}	0.03 ± 0.001^{ab}	0.13 ± 0.006^{b}	36.75 ± 10.86^{a}
NaCl: 60mM	40 ± 11.54^{d}	0.13 ± 0.001^{ab}	0.11 ± 0.003^{ab}	0.04 ± 0.008^{a}	0.16 ± 0.003^{a}	40.18 ± 13.09^{a}

گروه بندی بر اساس آزمون دانکن ($P\leq0.05$) انجام شده حروف مشترک نشان دهنده معنی دار نبودن اختلاف بین میانگین‌ها در هر تیمار است.

تغییرات روزنه‌ای

آنالیز واریانس میانگین قطر دستگاه روزنه‌ای، طول منفذ، عرض منفذ و طول سلول‌های نگهبان تحت تیمارهای مختلف در گیاه سیاه دانه معنی‌دار بود. اما میانگین تعداد روزنه‌ها در واحد سطح در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱).

قطر دستگاه روزنه‌ای تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مورد بررسی نشان داد. به طوری که گروه شاهد و خشکی دو روزه بیشترین قطر را داشتند و در یک گروه قرار گرفتند. کمترین قطر نیز در تیمارهای خشکی سه روزه و شوری ۳۰ میلی‌مولار NaCl دیده شد (جدول۱ ، شکل ۱). بر اساس گروه بندی دانکن پنج تیمار انجام شده در دو گروه قرار گرفتند. گروه یک شامل تیمار شاهد و خشکی دو روزه، گروه دوم شامل تیمارهای خشکی سه روزه و شوری ۳۰ میلی مولار NaCl بود. تیمار ۶۰ میلی مولار NaCl در هر دو گروه قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱، شکل ۱). بر این اساس تنها تیمارهای سه روز خشکی و شوری ۳۰ میلی‌مولار NaCl نسبت به شاهد کاهش معنی-دار نشان دادند.

طول سلول نگهبان تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مورد بررسی نشان داد. بیشترین میانگین طول سلول نگهبان مربوط به تیمارهای شاهد، خشکی دو روزه و شوری ۶۰ میلی‌مولار NaCl بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد و خشکی سه روزه بود (جدول ۱). بر اساس گروه بندی دانکن پنج تیمار انجام شده در دو گروه قرار گرفتند. گروه یک شامل تیمارهای شاهد، خشکی دو روزه و شوری ۶۰ میلی مولار NaCl بود که بالاترین میانگین طول سلول نگهبان را نشان دادند و گروه دوم شامل تیمارهای خشکی سه روزه و شوری ۳۰ میلی‌مولار NaCl بود که کمترین میانگین طول را نشان دادند (جدول۱، شکل ۱). بر این اساس طول سلول نگهبان، تنها تحت تیمار شوری ۳۰ میلی‌مولار و خشکی سه روزه نسبت به شاهد، کاهش معنی‌دار نشان دادند و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار با شاهد نشان نداد.

طول منفذ تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مورد بررسی نشان داد. به طوری که گروه شاهد بیشترین طول منفذ را داشت. کمترین طول منفذ نیز در تیمار خشکی سه روزه دیده شد (جدول ۱، شکل ۱). بر اساس گروه بندی دانکن پنج تیمار انجام شده در سه گروه قرار گرفتند. گروه یک شامل تیمار شاهد، در گروه دوم تیمار انحصاری قرار نگرفت گروه سوم شامل تیمار خشکی سه روزه بود. تیمار خشکی دو روزه بین هر سه گروه مشترک بود. تیمار شوری ۳۰ میلی مولار NaCl بین گروه دوم و سوم مشترک بود. تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار NaCl در دو گروه اول و دوم قرار گرفت (جدول۱، شکل ۱). بر این اساس طول منفذ روزنه، تنها تحت تیمارهای سه روز خشکی و شوری ۳۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد، کاهش معنی‌دار نشان دادند و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نداد.

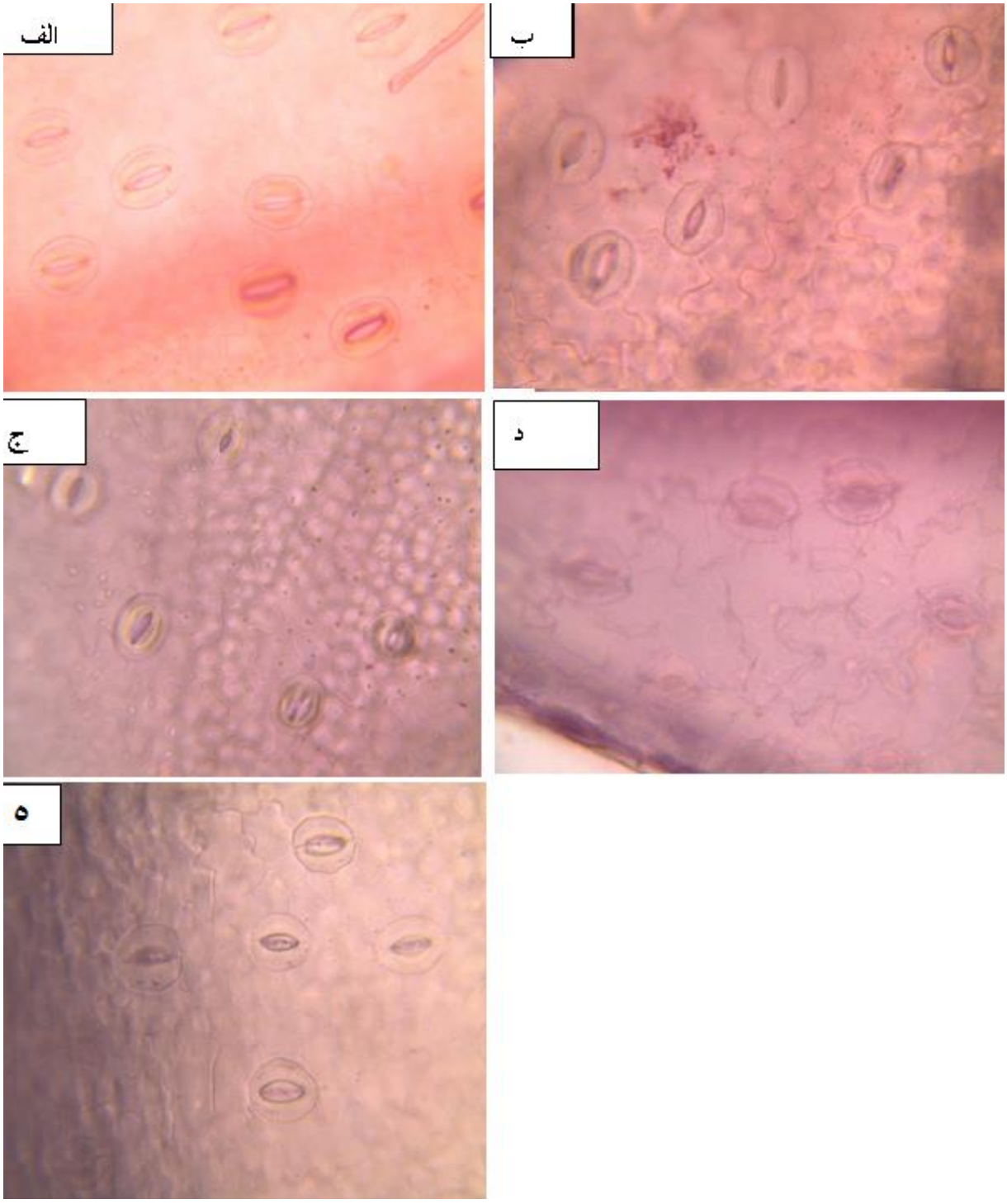
عرض منفذ تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مورد بررسی نشان داد. بیشترین میانگین عرض منفذ مربوط به تیمار شوری ۶۰ میلی مولار NaCl بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد و خشکی سه روزه بود. بر اساس گروه بندی دانکن پنج تیمار انجام شده در دو گروه قرار گرفتند. گروه یک شامل تیمار شوری ۶۰ میلی مولار NaCl و گروه دوم شامل تیمارهای شاهد و خشکی سه روزه بود. تیمارهای خشکی دو روزه و شوری ۳۰ میلی مولار ۳۰ میلی مولار NaCl در هر دو گروه قرار گرفتند و اختلاف معنی داری نشان ندادند (جدول ۱، شکل ۱). بر این اساس عرض منفذ روزنه، تنها تحت تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد، افزایش معنی‌دار نشان دادند و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار با شاهد نشان نداد.

با وجود اینکه تعداد روزنه‌ها در تیمار شاهد کمترین میانگین را نشان داد اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای اعمال شده و شاهد مشاهده نشد . با این وجود روند افزایش تعداد روزنه‌ها از شاهد به سمت شوری با غلظت ۶۰ میلی مولار NaCl دیده شد (جدول ۱، شکل ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

اهمیت درصد جوانه‌زنی بذرها در تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح مبرهن می‌باشد. فرآیند پیچیده‌ی جوانه‌زنی نیازمند جذب آب و متاثر از عوامل ژنتیکی و

محیطی می‌باشد [۱۶]. نتیجه حاصل از این تحقیق نشان داد که خشکی و شوری درصد جوانه‌زنی گیاه سیاه دانه را کاهش داده است. روند کاهشی درصد جوانه‌زنی با افزایش میزان شدت تنش خشکی و شوری تشدید می‌شود به طوری‌که با تیمار دو روز خشکی درصد جوانه‌زنی به ۸۳/۳۳ درصد رسید و با تشدید تیمار خشکی به سه روز خشکی این میزان



شکل ۱. تغییرات روزنه گیاه سیاه دانه در پاسخ به تیمارهای مختلف خشکی و شوری. الف: شاهد؛ ب: تیمار دو روز خشکی؛ ج: تیمار سه روز خشکی؛ د: تیمار ۳۰ میلی‌مولار NaCl؛ ه: تیمار ۶۰ میلی‌مولار NaCl.

به ۶۰ درصد کاهش یافت. جوانه‌زنی بذر سیاه‌دانه حساسیت بیشتری تحت تنش شوری نسبت به خشکی نشان داد به طوریکه با شوری ۳۰ میلی مولار (۱/۷۵ میلی‌گرم NaCl) درصد جوانه‌زنی به ۷۳/۳۳ درصد رسید و با افزایش شدت شوری به ۶۰ میلی‌مولار (۳/۵ میلی‌گرم NaCl) کاهش شدید جوانه‌زنی تا ۴۰ درصد در بذر این گیاه مشاهده شد. جوانه‌زنی در سه مرحله‌ی آبنوشی، افزایش فعالیت‌های متابولیکی و خروج ریشه‌چه اتفاق می‌افتد [۱۷]. وجود رابطه خطی مستقیم بین درصد جوانه‌زنی و تامین آب موجب کاهش درصد جوانه‌زنی در پی شرایط تنش شوری و خشکی جوانه‌زنی می‌شود [۱۸]. مختل شدن سنتز پروتئین‌های ذخیره‌ای و به دنبال آن کاهش جوانه‌زنی بذرها، ناشی از کاهش تجزیه مواد ذخیره‌ای و محدودیت جذب آب می‌باشد. آسیب ناشی از شوری بر غشای سیتوپلاسمی سلول‌ها، سبب افزایش تراوایی غشاها به علت جایگزینی کلسیم توسط سدیم شده و افزایش تلفات پتاسیم را به دنبال دارد. در واقع نمک از طریق کاهش جذب آب و افزایش جذب یون‌ها موجب مسمومیت و کاهش جوانه‌زنی بذر می‌شود [۱۹]. کاهش سرعت جذب آب با تاثیر بر فشار اسمزی و کاهش یون‌های غذایی مثل کلسیم و پتاسیم و تغییر فعالیت‌های هورمونی و آنزیمی، بر جوانه‌زنی و رشد بذرها تأثیر می‌گذارد [۸]. سیاه دانه نیز در مرحله جوانه‌زنی حساس به خشکی است و تنش خشکی بالا باعث کاهش درصد جوانه‌زنی آن می‌شود [۲۰].

تاثیر خشکی و شوری بر کاهش جوانه‌زنی بذر گیاه سیاه دانه توسط کبیری و همکاران [۲۱]، کبیری و نقی‌زاده [۲۲] و خرمدل وهمکاران [۴] نیز گزارش شده است که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد.

کاهش جوانه زنی با افزایش تنش شوری توسط محققین بسیاری گزارش شده است. Hosseini و Rezvani Moghadam [۱۳]، Dashti و همکاران (۱۲) و Gholami و همکاران [۲۳] به ترتیب با بررسی بذرهای اسفرزه، ختمی و ماشک گرمسیری تحت تأثیر تنش خشکی و شوری نشان دادند که با افزایش این دو تنش، به طور معنی داری از سرعت و درصد جوانه زنی گیاه کاسته شد. همچنین کاهش جوانه‌زنی بذر تحت تاثیر شوری، می‌تواند ناشی از تأثیر مستقیم NaCl بر رشد جنین باشد. محققان دریافتند که سطوح بالای NaCl موجود در محلول آبیاری، از طویل شدن محور جنینی به میزان بسیار زیادی ممانعت می‌کند. از طرف دیگر کلرید سدیم به دلیل اثر بازدارندگی در جذب آب به وسیله بذر، تعداد بذور جوانه زده را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۴]. Motamedi و همکاران [۲۵] و Seyed-sharifi و Seyed-Sharifi [۲۶] در تحقیق بر روی صفات فیزیولوژیک گیاه گلرنگ در مرحله جوانه زنی و رشد گیاهچه، به ترتیب تحت تاثیر تنش شوری و تنش خشکی، بیان نمودند با افزایش شوری و خشکی درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در مقایسه با شاهد کاهش می‌یابد. همچنین تاثیر منفی تنش‌های خشکی و شوری بر بذور گیاهانی مثل کنجد، قدومه به ترتیب توسط ایزدی و همکاران [۲۸] و گنجعلی و همکاران [۲۹] گزارش شده است.

روزنه‌های برگ نقش مهمی در زنده ماندن گیاهان تحت شرایط تنش ایفا می‌نمایند استراتژی ساختار تشریحی برگ‌ها به منظور کاهش تعرق طی تنش خشکی، کاهش تعداد روزنه‌ها و بستن روزنه‌ها می باشد. روزنه‌های باز بیشتر در طول تنش خشکی و فتوسنتز بالاتر از ویژگی‌های گیاهان پایدار در برابر خشکی است [۸].

قطر دهانه روزنه تحت شرایط خشکی نقش مؤثری در تنظیم میزان تبخیر و تعرق از سطح برگ و اتلاف آب گیاه دارد. همچنین ثابت شده است که تعداد و اندازه روزنه‌ها تا حدود زیادی متاثر از ژنوتیپ و محیط هستند [۲۷].

نتایج این بررسی نشان داد که تنش خشکی تاثیر بیشتری بر کاهش ابعاد روزنه داشته است به طوریکه قطر دستگاه روزنه‌ای و طول منفذ کاهش معنی‌داری نشان دادند و روزنه‌ها به صورت دراز و کشیده شدند که نشان از تاثیر تنش خشکی بر بسته شدن بیشتر روزنه‌ها در طی خشکی سه روزه بوده است. همچنین تنش شوری شدید (۶۰ میلی مولار NaCl) موجب افزایش معنی‌دار عرض منفذ گردید و بر سایر خصوصیات روزنه‌ای تاثیر معنی‌داری نداشت.

با وجود اینکه تنش‌های خشکی و شوری اعمال شده افزایش معنی‌داری در تعداد روزنه‌ها نشان ندادند اما روند افزایشی تعداد روزنه طی افزایش تنش از خشکی دو روزه به سمت شوری ۶۰ میلی‌مولار NaCl دیده شد به طوریکه شاهد

کمترین تعداد روزنه و شوری ۶۰ میلی‌مولار NaCl بیشترین تعداد روزنه را داشتند. به نظر می‌رسد واکنش روزنه‌ای گیاه سیاه دانه نسبت به شرایط تنش خشکی بیشتر از تنش شوری باشد.

اندازه روزنه‌ها و فراوانی آنها به عنوان شاخصی از مقاومت گیاهان تحت شرایط کم آبیاری بارها مطالعه شده است. شیربانی و همکاران [۳۰] با بررسی مقاومت ارقام انجیر نسبت به خشکی نشان دادند که در تمامی ارقام در سطح تنش شدید و متوسط طول، عرض و اندازه روزنه، طول، عرض و اندازه سلول-های محافظ کاهش می‌یابد که این نتیجه بیانگر این موضوع است که تنش ویژگی‌های کمّی روزنه را کاهش می‌دهد. Ratnayaka وKincaid [۳۱] در بررسی اثر تنش نیتروژن و خشکی روی گیاه دارویی گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی *Cassia angustifolia* قطر منفذ روزنه کاهش پیدا کرد و یکی از دلایل کاهش قطر منفذ را انتقال آبسیزیک اسید ساخته شده در ریشه به برگ از طریق آوندها در طی تعرق و تجمع آن در سلول‌های محافظ دانسته که منجر به بسته شدن روزنه می‌شود.

دیانتی و همکاران [۳۲] با بررسی تغییرات خصوصیات روزنه ای تحت تاثیر سطوح مختلف شوری در دو گونه از گیاه *Hedysarum* کاهش طول، عرض و مساحت روزنه و افزایش تعداد روزنه را تحت شرایط شوری نشان دادند و روند کاهشی ابعاد را ناشی از کاهش رشد گیاهان ذکر کردند. نتایج حاصل از بررسی تاثیر تنش خشکی بر دو گونه *Agropyron desertorum* و *Festuca arundinaceae* نیز نشان داد که با افزایش تنش خشکی، تراکم روزنه به طور معنی‌داری افزایش و قطر دهانه روزنه کاهش یافت [۳۳].

منابع

[1] Nakabayashi R., Saito K., Integrated metabolomics for abiotic stress responses in plants. Current Opinion in Plant Biology, 2015, 24: 6-10.

[2] Meloni D.A., Gulotta M.R., Martinez C.A., Oliva M.A., The effect of Salt stress on growth, nitrate reduction and praline and glycinebatine accumulation in *Prosopis alba*. Brazilian Journal of Plant Physiology, 2004, 16 (1): 39-46.

[3] Gharibi S., Seyed Tabatabaei B. I., Saeedi G., Goli S. M. H., Talebi M., Effect of drought stress on some physiological traits and antioxidant activity of Achillea tenuifolia Lam. Herbal medicines, 2012, 3(3): 181-190 (Full text In Persian).

[4] Khorramdel S., Rezvani Moghaddam P. Amin Ghafori A., Shabahang J., Study the Germination of Black Seed (Nigella Sativa L.) under Drought Stress Condition in Different Salicylic Acid Levels. Iranian Journal of Field Crops Research, 2013, 10(4): 709-725 (Full text in Persian)

[5] Salem M., Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seeds. International Immunopharmacology, 2005, 5(13-14): 1749-1770.

[6] Ghaderi-far F., Akbarpour W., Khavari F., Ehteshamnia A. Determination of salinity tolerance threshold in 6 medicinal plans. Plant Production, 2012, 18(4): 15-24. (In Persian).

[7] Koocheki A.R., Alizadeh A. Agronomy with dry land. Astan Gods Razavi Publishers, Mashhad, Iran, 1995, 260 pp (In Persian).

[8] Ghaderi S., Ghorbani J., Gholami P., Karimzadeh A., Salarian F. Effect of drought and salinity stresses on germination indices of vetch (*vida villosa* l.). Journal of Agroecology, 2011, 3: 120-129 (In Persian).

[9] Irannejad H., Javanmardi Z., Golbash M., Zarabi M. Effect of drought stress on germination and early seedling growth in flax cultivars (Linum usitatissimum L.). 1st congress of oil crops, University of Isfahan, 2009, 154-156 (In Persian).

[10] Boroumand Rezazadeh Z., Koocheki A. Germination response of Ajowan,Fennel and Dill to osmotic potential of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 in different temperature regimes. Iranian Journal of Field crops Research, 2005, 3: 207-217 (In Persian).

[11] Burnett S., Thomas P., Van Iersel M. Post germination drenches with PEG-8000 reduce growth of salvia and marigolds. Horticulture Science, 2005, 40: 675-679.

[12] Dashti M., Sattar N., Qurbanzadeh E. Effect of drought and salinity stresses on germination of Althaea officinalis. First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture, 2007, 259 pp (In Persian).

[13] Hosseini H., Rezvani Moghadam P. Effect of water and salinity stress in seed germination on Isabgol (Plantago ovata). Iranian Journal Field Crop Research, 2006, 4: 15-22 (In

Persian).

[14] Solmaz I., San N., Dasgan Y., Aktas H., Yetisir H., Unlu H. The effect of salinity on stomata and leaf characteristics of dihaploid melon lines and their hybrids. Journal of food agriculture and environment, 2011, 9 (3 and 4): 172-176.

[15] Bukhtiar B., Shaykra A. Drought tolerance in lentil. II Differential genotypic response to drought. Journal of Agricultural Research Lahore, 1990, 28: 117-126.

[16] Windauer L., Altuna A., Benech-Arnold R. Hydrotime analysis of *Lesqueralla fendleri* seed germination response to priming treatments. Industrial Crops and Products, 2007, 25(1): 70-74.

[17] Finch –Savage W.E. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist, 2006, 171: 501–523.

[18] Ashraf M., Ashraf A.M., Qasim A. Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: leaf lipid peroxidation and pH enolic contents. Pakistan Journal of Botany, 2010, 42 (1): 559-565.

[19] Takel A. Seedling emergence and growth of sorghum genotypes under variable soil moisture deficit. Agronomy Journal, 2000, 48: 95-102.

[20] Zamirifar F., Bakhtiari S. Effect of priming on seed germination and seedling characteristics of *Nigella Sativa* at drought conditions. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 2014, 4 (3): 358-366.

[21] Kabiri R., Farahbakhsh H., Nasibi, F., Effect of Drought Stress on Physiological and Biochemical Properties of Black Seed (Nigella sativa L.). Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 2014, 30(4):600-609(Full text in Persian).

[22] Kabiri R., Naghizade A., Study the effect of salicylic acid pretreatment on germination and early growth of black cumin (Nigella sativa) under salinity stress. Iranian journal of Seed Science and Technology, 2015, 4(7):61-72 (Full text in Persian).

[23] Gholami P., Ghorbani J., Karimzadeh A., Salarian F., Ghaderi S. Assessment of germination indices in *Visia monantha* under salinity stress. The first National Conference of Environmental Stresses in Agricultural Science, The University of Birjand, 28: 2009, 464-471 (Full text in Persian).

[24] Poljakoff-mayber A., Somers G.F., Werker E., Gallagher J.I. Seeds of *Kosteletzkya virginica* (Malvaceace), their structure, germination and salt tolerance. American. Journal of Botany, 1994, 81: 54-59.

[25] Motamedi M., Khodarahmpour Z., Naseri Rad H. Study of physiologic tolerance of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes on salinity stress in germination stage and seedling growth. Journal of Crop Breeding, 2011, 3(8): 81-92. [Full text in Persian].

[26] Seyed sharif R., Seyed sharif R. Evaluation the effects of poly ethylene glycol on germination and growth seedling carthamus cultivars. Journal of Biology, 2008, 21(3): 400- 410. (Full text in Persian).

[27] Taiz L., Zeiger E. Plant Physiology. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts. 1998.

[28] Izadi E., Zarghan H., Mohamadian M., Yanegh A., Evaluation of germination and seedling growth characteristics of three sesame (Sesamum indicum) cultivars in salt and drought stress condition. Applied Field Crops Research, 2014, 27(1): 92-100 (Full text in Persian).

[29] Ganjali A.R., Ajorlo M., Khaksafidi A., The Effect of Drought and Salinity Stress on Seed Germination of (Alyssum Homalocarpum). Journal of Crop Breeding, 2017, 9(21): 139-146 (Full text in Persian).

[30] Shirbani S., Davari Nejad GH., Shoor M., A Study of the Stomatal Characteristics in Fig Cultivars Under Drought Stress Conditions. Iranian Journal of Horticultural Science, 2012, 43(2): 125-133 (Full text in Persian).

[31] Ratnayaka H.H., Kincaid D. Gas exchange and leaf ultrastructure of Tinnevelly senna, *Cassia angustifolia*, under drought and nitrogen stress. Crop Science, 2005, 45: 840-847.

[32] Dianati Tilaki GH.A., Keshavarz A., Amiri B., Sadati E., Effects of Salinity Stress on Stomatal Variations of Hedysarum coronarium L. and Hedysarum criniferum Boiss. Journal of Range and Watershed Management, 2017, 70(1): 101-110 (Full text in Persian).

[33] Sadeghi A., Etemadi N., Shams M., Nyazmand F., Effect of Drought Stress on Morphological and Physiological Characteristics of Wheatgrass and Tall fescue. Journal of Horticultural Science, 2014, 28(4): 544- 553 (Full text in Persian).

The alteration of germination percentage and leaf stomatal features of black cumin (*Nigella sativa* L.) subjected to drought and salinity stresses

Aghajanzadeh-Gheshlaghi S.[1], Peyvandi M.[1] *, Majd A.[1], Abbaspour H.[1]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Tehran-North Branch, Tehran, Iran.

* (Corresponding author): m_peyvandi@iau-tnb.ac.ir

Received: September 2020 Accepted: January.2020

Abstract

Black cumin (*Nigella sativa* L.) as an herbal plant with high medicinal and economical usage, belongs to Rannunculaceae family. Due to the economic and medicinal importance of this plant and the seriousness of salinity and drought problems in Iran, in this study, the effect of salinity and drought stress on germination percentage and stomatal changes was investigated. The experiment was performed based on completely randomized design with three replications in the pot condition. To create different levels of drought and salinity, two days/ three days of drought and 30, 60 mM NaCl were used respectively. Germination percentage was recorded daily by placing 10 seeds in Petri-dish. Leaf stomata traits were studied using a light microscope two months after treatment. Variance analysis results showed that increasing drought and salinity stress reduced germination percentage. Drought stress also had a greater effect on reducing the size of the pore so that the diameter and the length of the pore showed a significant decrease and the pores were elongated, which shows the effect of dry stress on the closing stomata. Also, high salinity stress (60 mM NaCl) caused a significant increase in pore width and had no significant effect on other stomatal characteristics. The applied drought and salinity stresses did not show a significant increase in the number of stomata. According to the stomatal reaction in different levels of draught stress rather than salinity, it could be indicated the higher sensitivity of this plant to drought treatments.

Keywords: Black cumin, drought, germination percentage, salinity, stomata.