

تأثیر تنش خشکی و مقادیر کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه، درصد اسانس و میزان تیموکینون گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)

مصطفی حیدری^{۱*}، حسین جهان تیغی^۲

۱. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی شاهرود؛ ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۶

چکیده

تأثیر تنش خشکی بر روی گیاهان پیچیده بوده و بستگی زیادی به مراحل رشد و نمو آن‌ها دارد. محدودیت رطوبت در خاک از طریق کاهش مقدار فتوسنتز، سطح برگ تولیدی، اختلال در جذب عناصر غذایی و انتقال مواد فتوسنتزی به دانه‌ها بر عملکرد گیاهان تأثیر سوء می‌گذارد. به منظور بررسی اثرات تنش خشکی در مراحل مختلف رشدی به همراه مصرف مقادیر مختلف کود نیتروژن بر عملکرد، اجزای عملکرد دانه و نیز میزان تیموکینون و درصد اسانس در گیاه دارویی سیاهدانه، آزمایشی به صورت کرت-های خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی زهک واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب شهرستان زابل اجرا گردید. تیمارهای تنش خشکی که با قطع آبیاری در مراحل مختلف رشدی گیاه به وجود آمدند شامل: W_1 = شاهد (آبیاری کامل)، W_2 = قطع آبیاری در مرحله ساقه رفتن تا شروع گلدهی، W_3 = قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا شروع پر شدن دانه‌ها و W_4 = قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای مرحله پر شدن دانه‌ها به عنوان عامل اصلی و چهار سطح کود نیتروژن از منبع اوره شامل: N_1 = شاهد (بدون مصرف هیچ نوع کود)، N_2 = ۳۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، N_3 = ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و N_4 = ۹۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی در هر یک از مراحل رشدی گیاه منجر به کاهش عملکرد دانه در سیاهدانه شد. بیشترین این کاهش به میزان ۴۰/۹ درصد در تیمار W_4 مشاهده شد. تنش خشکی با تأثیر معنی‌دار بر عملکرد بیولوژیکی، تعداد انشعابات در بوته، تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در فولیکول، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه از مقدار آن‌ها کاست و بر درصد اسانس و میزان تیموکینون به صورت معنی‌داری افزود. بیشترین این تأثیر در تمامی صفات فوق در تیمار W_4 مشاهده شد. در این بین کود نیتروژن با تأثیر مثبت بر کلیه اجزای عملکرد دانه سبب افزایش عملکرد دانه شد. در بین سطوح کودی نیتروژن، سطح N_3 بیشترین تأثیر را بر عملکرد، اجزای عملکرد دانه، درصد اسانس و میزان تیموکینون تولیدی در سیاهدانه دارا بود. در این آزمایش اثر متقابل تنش خشکی و نیتروژن تنها در مورد درصد اسانس و میزان تیموکینون دانه معنی‌دار شد و در مورد سایر صفات از تأثیر معنی‌داری برخوردار نبود. بیشترین درصد تیموکینون و اسانس از تیمار W_4N_3 حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، سیاهدانه، صفات کمی، مواد مؤثره، نیتروژن

مقدمه

گونگونی می‌تواند رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد، از این رو موجب کاهش و به تأخیر انداختن جوانه‌زنی، کاهش رشد اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک می‌گردد. در صورتی که شدت تنش آب زیاد باشد، کاهش شدید فتوسنتز و مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام مرگ گیاهان را به دنبال خواهد داشت (Singh and Patel, 1996).

تنش خشکی و کمبود آب قابل دسترس یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش تولید محصولات کشاورزی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا محسوب می‌شود. تنش خشکی زمانی در گیاهان حادث می‌گردد که میزان آب دریافتی کمتر از تلفات آن بوده، این امر ممکن است به علت اتلاف بیش از حد آب یا کاهش جذب و یا وجود هر دو مورد باشد (Hassani, 2005). خشکی به صورت‌های

گیاهان به شمار می‌رود که کمبود آن تداخل فراوانی را در رشد و نمو گیاهان وارد می‌کند (Marschner, 1995). ماده خشک گیاهی تقریباً دارای دو تا چهار درصد نیتروژن است. نیتروژن جزء اولیه تشکیل دهنده ترکیبات آلی همانند اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به شمار می‌رود. نیترات و آمونیم دو فرم نیتروژن هستند که توسط گیاهان جذب و در متابولیسم آن‌ها وارد می‌شوند (Marshner, 1995).

در اکثر گیاهان دارویی، نیاز به نیتروژن بلافاصله بعد از جوانه‌زنی شروع و تا مرحله زایشی به طول می‌انجامد (Pavlikova et al., 1994). در مطالعه‌ای بر روی خشخاش (*Papaver somniferum L.*) مشخص گردید، با مصرف مقادیر مختلف نیتروژن در دو مرحله رشد رویشی و زایشی، تعداد کپسول‌ها در تک بوته و حجم آن‌ها به طور معنی‌داری فزونی پیدا کرد (Losak and Richter, 2004). همچنین کاربرد دو مرحله‌ای کود اثر افزایشی ۲۶ درصدی را روی عملکرد دانه خشخاش در مقایسه با مصرف یک مرحله‌ای آن داشت. در مطالعه دیگری اثر مثبت مقدار و تقسیم کود نیتروژن بر عملکرد دانه و محتوای ماده مؤثره در گیاه دارویی رازیانه گزارش شد (Jain, 1990). در رابطه با گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) مصرف کود نیتروژن در مراحل مختلف رشد منجر به افزایش تعداد شاخه‌های جانبی، گل‌دهی زودرس، افزایش طول سرشاخه‌های گل‌دار، وزن هزار دانه و درصد جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد (Safi-Khani et al., 2006). در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis L.*) مشخص شد بیشترین مقدار عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه با کاربرد ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بدست می‌آید (Arganosa et al., 1998).

وقوع تنش خشکی سبب فعال نمودن فرآیندهای ریختی، فیزیولوژیک و متابولیک در گیاهان می‌شود که توانایی آن‌ها را برای مقابله با کم‌آبی افزایش می‌دهد. بسیاری از این واکنش‌ها به ویژه فیزیولوژیک و متابولیک از نوع انرژی‌خواه هستند. تنظیم مصرف نیتروژن در شرایط کم‌آبی به جهت تکثیری که در توسعه رشد رویشی و فرآیندهای متابولیکی دارد حایز اهمیت می‌باشد. با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از انجام این تحقیق بررسی کاربرد سطوح مختلف نیتروژن در طی بروز تنش خشکی

مشخص شده گیاهان واکنش‌های متفاوتی را نسبت به تنش خشکی از خود نشان می‌دهند. در بین گیاهان دارویی، سیاهدانه (*Nigella sativa L.*) یکی از گونه‌های مهم خانواده Ranunculaceae است. سیاهدانه گیاهی یک‌ساله، گل‌دار و بومی منطقه جنوب غرب آسیا است و تا حدی نیز به تنش خشکی مقاوم می‌باشد. در ایران این گیاه به ویژه در اراک و اصفهان به فراوانی می‌روید و از دانه‌های آن به عنوان ادویه استفاده می‌شود. به دلیل داشتن ماده‌ای موسوم به تیموکینون، این گیاه دارای اثرات ضد تشنجی است. همچنین در دانه‌های آن اثر ضد توموری و ضد باکتریایی نیز مشاهده شده است. از اسانس گیاه سیاهدانه ماده‌ای به نام نیژلون استخراج می‌شود که می‌تواند اثر قاعده‌آور، کرم‌کش، مسهل و زیاد کننده ترشحات شیر داشته باشد (Riaz et al., 1996).

در بررسی تأثیر تنش خشکی بر سیاهدانه در شرایط مزرعه مشخص شده است که حداکثر مقاومت این گیاه به خشکی در دور آبیاری ۲۰ روز است. تنش خشکی از ارتفاع بوته، طول برگ و تعداد برگ در این گیاه کاسته و سبب تسریع در مرحله گلدهی آن می‌شود (Babaei, 1995). در مطالعه‌ای بر روی گیاه فلفل مشخص گردید تنش خشکی از رشد و عملکرد این گیاه کاسته و بر میزان پرولین در برگ‌های آن افزود (Koc et al., 2010). در مورد گیاه آفتابگردان، تنش خشکی نه تنها سبب کاهش عملکرد دانه شد، بلکه در طول دوره تنش با افزایش فعالیت گاما-گلوتامیل کیناز میزان پرولین در برگ‌های آن افزایش یافت (Manivannan et al., 2007). در تحقیقی بر روی گیاه دارویی بادرشبویه در طی اعمال خشکی با تیمارهای ۱۰۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین میزان پرولین و کاهش رشد در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی حاصل شد. همچنین در طی بروز تنش از مقدار کلروفیل a کاسته و بر مقدار کلروفیل b افزوده شد (Safi-Khani et al., 2006). از جمله اثرات منفی تنش خشکی، اختلال در تغذیه معدنی گیاهان است که به طریق زیر ممکن است باعث این عارضه شود: تغییر در جذب یون‌ها توسط ریشه، کاهش انتقال یون‌ها از خاک به ریشه، کاهش توانایی انتقال مواد معدنی در داخل گیاه، کمبود یا تجمع یون‌هایی که ممکن است در متابولیسم اختلال ایجاد کرده یا پاسخ‌های سازش را القاء نمایند (Chaudhry et al., 1999). در بین عناصر غذایی، نیتروژن یکی از عناصر پرمصرف بسیار ضروری برای

منبع سوپر فسفات تریپل و کود پتاس به میزان ۵۰ کیلوگرم از منبع سولفات پتاسیم (K_2SO_4) مصرف و با خاک مخلوط شدند. همچنین یک سوم کود نیتروژن نیز متناسب با تیمار کودی طرح، همزمان با کاشت در کرت‌های فرعی پخش و در عمق مناسب خاک قرار داده شدند. عملیات کاشت با استفاده از بذکار خطی کار مخصوص طرح‌های آزمایشی ساخت کارخانه Wintersteiger اتریش و بر اساس مقدار بذر مصرفی ۱۲ کیلوگرم در هکتار با فواصل بین خطوط ۳۰ سانتی‌متر در تاریخ ۸/۸/۲۳ صورت گرفت. بذور این آزمایش از توده محلی زابل تکثیر شده توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سیستان تهیه گردید. بلافاصله بعد از کاشت آبیاری صورت گرفت. روش آبیاری در این آزمایش به صورت کرتی بود.

در پایان دوره و پس از رسیدگی نهایی (زرد شدن ۸۰ درصد فولیکول‌ها)، جهت تعیین عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه بعد از حذف حاشیه، بوته‌های واقع در یک متر مربع وسط هر کرت برداشت شدند. همچنین جهت اندازه‌گیری اجزای عملکرد دانه شامل: تعداد انشعابات در بوته، تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در فولیکول، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه، پنج بوته از هر کرت فرعی انتخاب و این اندازه‌گیری‌ها روی آن‌ها صورت گرفت. جهت تعیین درصد و عملکرد اسانس از روش تقطیر و دستگاه کلونجر استفاده شد. درصد تیموکینون اسانس توسط دستگاه GC-Mass مدل Hewlett Packard-5890 II تعیین شد. ستون موئینه مورد استفاده به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، دمای به کار رفته ۲۹۰-۲۲۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت افزایش دما معادل ۳ درجه در دقیقه، و گاز حامل مورد استفاده هلیوم با سرعت حرکت یک میلی-لیتر در دقیقه داخل ستون بود. پیک‌های خروجی بر اساس استاندارد و جرم مولکولی تشخیص و تعیین مقدار گردیدند.

در مراحل مختلف رشد بر روند رشد رویشی، عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سیاهدانه بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی زهک واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب شهرستان زابل با عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۴۸۳ متر از سطح دریا انجام گرفت. متوسط بارندگی سالیانه منطقه ۶۳ میلی‌متر، متوسط حداقل و حداکثر دمای سالیانه آن به ترتیب ۱۶ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد و از لحاظ اقلیمی جزء مناطق گرم و خشک به شمار می‌رود. نتایج حاصل از تجزیه شیمیایی خاک محل آزمایش قبل از کاشت در جدول ۱ آورده شده است.

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای خشکی که با قطع آبیاری در مراحل مختلف رشدی گیاه به وجود آمدند شامل W_1 = شاهد (آبیاری کامل)، W_2 = قطع آبیاری در مرحله ساقه رفتن تا شروع گلدهی، W_3 = قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا شروع پر شدن دانه‌ها و W_4 = قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای مرحله پر شدن دانه‌ها به عنوان عامل اصلی و چهار سطح کود نیتروژن از منبع اوره شامل: N_1 = شاهد (بدون مصرف هیچ نوع کود)، N_2 = ۳۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، N_3 = ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و N_4 = ۹۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند.

در این آزمایش اندازه هر کرت ۴×۲ متر، فاصله بین کرت‌ها نیم متر و فاصله بین بلوک‌ها دو متر در نظر گرفته شد. قبل از اجرای طرح بر اساس نتایج تجزیه شیمیایی خاک کود فسفره P_2O_5 به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از

جدول ۱. نتایج تجزیه خاک محل آزمایش در عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری

Table 1. Results of soil analysis at 0-30 cm depth

نیتروژن	فسفر	پتاسیم	مواد آلی	لای	رس	شن	اسیدیته	هدایت الکتریکی	بافت خاک
N	P	K	OM	Silt	Clay	Sand	pH	EC	Texture
(ppm)	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)	(%)	(%)		($ds.m^{-1}$)	
3.6	10.2	155	0.31	30	14	56	7.8	2.3	لومی شنی

عملکرد در این مرحله می‌توان به کاهش طول دوره پر شدن دانه‌ها و پیری زودرس برگ‌ها اشاره کرد (Whitfield et al., 1989).

مصرف کود نیتروژن تأثیر معنی داری بر عملکرد دانه در سیاهدانه داشت (جدول ۲) و سبب افزایش آن گردید. هر چند با افزایش میزان مصرف کود نیتروژن بر عملکرد دانه افزوده شد اما بیشترین میزان عملکرد در سطح کودی ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد از افزایشی معادل ۲۰/۶ درصد برخوردار بود (جدول ۳). محققین اظهار نمودند که نیتروژن با تأثیری که بر رشد و توسعه اندام‌هایی رویشی از طریق سنتز پروتئین‌ها، گسترش سطح برگ‌ها و نیز دوام اندام‌های فتوسنتز کننده دارند می‌تواند در افزایش عملکرد دانه در گیاهان روغنی نقش موثری داشته باشد (Almond et al., 1986). در این آزمایش اثر متقابل خشکی و نیتروژن تأثیر معنی داری بر عملکرد دانه گیاه سیاهدانه نداشت (جدول ۲).

در پایان داده‌های حاصله با استفاده از نرم افزار کامپیوتری MSTAT-C تجزیه و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها و جداول از برنامه EXCEL استفاده گردید.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد اعمال تنش خشکی در مراحل مختلف رشدی تأثیر معنی داری بر عملکرد دانه سیاهدانه دارد (جدول ۲). از آنجایی که در هر یک از مراحل رشدی بخش‌های خاصی از اجزاء عملکرد دانه شکل می‌گیرند، لذا تأثیر خشکی بر هر یک از این مراحل متفاوت بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تیمار تنش خشکی W₄ که با قطع آبیاری در مراحل گلدهی تا انتهای مرحله پر شدن دانه‌ها همراه بود، بیشترین تأثیر را بر عملکرد دانه داشت و نسبت به تیمار شاهد به میزان ۴۰/۹ درصد از عملکرد دانه تولیدی کاست. از دلایل کاهش

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس عملکرد کمی، درصد اسانس و تیموکینون سیاهدانه در تیمارهای تنش خشکی و کود نیتروژن

Table 2. Analysis of variance in quantitative yield, essential oil and content of thymoquinone in *Nigella Sativa* under drought stress and nitrogen fertilizer

S.O.V	df	درجه	عملکرد	تعداد	تعداد فولیکول	تعداد دانه در	تعداد دانه در	وزن هزار	درصد	درصد
		آزادی	عملکرد دانه	بیولوژیکی	انشعابات بوته	در بوته	فولیکول	بوته	دانه	اسانس
		Grain yield	Biological yield	Branches per plant	Follicles per plant	Seeds per follicle	Seeds per plant	1000 seeds weight	Essential oil	Thymoquinone
تکرار Replication	2	3804.7 ^{ns}	157231.6 ^{ns}	4.68 ^{ns}	1.72 ^{ns}	1.75 ^{ns}	11494.7 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.000001 ^{ns}	1.69 ^{ns}
خشکی Water stress (W)	3	255166.1 ^{**}	2958137.6 ^{**}	460.9 [*]	1255.3 ^{**}	2236.3 ^{**}	12286029.1 ^{**}	0.144 ^{**}	0.002 ^{**}	61.8 ^{**}
خطای a Error a	6	6680.1	64381.6	60.3	6.49	14.97	52683.8	0.014	0.0001	1.72
نیتروژن Nitrogen (N)	3	39000.9 ^{**}	453961.9 ^{**}	115.4 ^{**}	116.8 ^{**}	771.9 ^{**}	2176355.7 ^{**}	0.040 [*]	0.0021 ^{**}	21.36 ^{**}
خشکی × نیتروژن W × N	9	2834.9 ^{ns}	28342.4 ^{ns}	4.02 ^{ns}	6.72 ^{ns}	39.19 ^{ns}	264939.1 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.0001 ^{**}	5.01 ^{**}
خطای b Error b	24	1897.1	67329.7	16.64	8.09	43.71	76662.2	0.010	0.00001	0.149
CV%		7.35	11.51	10.91	11.1	10.09	15.4	5.78	3.07	1.25

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** means non- significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

اجزای عملکرد دانه

شاخص برداشت می‌کاهد (Delkosh et al., 2004). سیاهدانه گیاهی محدود رشد است، لذا افزایش تنش خشکی سبب افزایش سرعت گذر از مرحله رویشی به زایشی می‌شود که این امر کمتر شدن تعداد شاخه های فرعی، تعداد فولیکول تولیدی در بوته و وزن هزار دانه را به همراه خواهد داشت (Mozzafari et al., 2000).

بکار گیری و مصرف کود نیتروژن در این آزمایش تأثیر معنی داری بر کلیه اجزای عملکرد دانه سیاهدانه داشت. اما اثر متقابل خشکی و نیتروژن در هیچ کدام از موارد فوق معنی دار نگردید (جدول ۲). هر چند با افزایش نیتروژن مصرفی کلیه اجزای عملکرد دانه سیاهدانه افزایش یافتند اما بجز تعداد فولیکول در بوته در سایر موارد تفاوت معنی داری بین تیمار کودی N_3 و N_4 مشاهده نگردید (جدول ۳). مقدار افزایش عملکرد بیولوژیکی، تعداد انشعابات در بوته، تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه در تیمار کودی N_4 نسبت به تیمار شاهد به ترتیب معادل $17/7$ ، $15/6$ ، $22/6$ ، $19/7$ ، $38/1$ و $6/8$ درصد بودند (جدول ۳).

عملکرد دانه حاصل برآیند مجموعه ای از اجزاست. در این آزمایش اعمال تنش خشکی در مراحل مختلف رشدی تأثیر معنی داری بر کلیه اجزای عملکرد دانه سیاهدانه (عملکرد بیولوژیکی، تعداد انشعابات بوته، تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در فولیکول، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه) داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات در تیمارهای مختلف خشکی نشان داد اعمال تنش خشکی در هر یک از مراحل مختلف رشدی تا حدی سبب کاهش مقادیر این اجزاء عملکرد گردید، بیشترین کاهش اجزای عملکرد در تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای مرحله پر شدن دانهها مشاهده شد (جدول ۳). در این مرحله از اعمال تنش خشکی، مقادیر عملکرد بیولوژیکی، تعداد انشعابات در بوته، تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در فولیکول، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه به ترتیب از کاهشی معادل $39/06$ ، $24/3$ ، $58/6$ ، $39/1$ ، $75/2$ و $13/5$ درصد نسبت به تیمار شاهد برخوردار بودند (جدول ۳). تنش خشکی در مرحله ساقه رفتن و دیگر مراحل رشدی کلزا، طور معنی داری از عملکرد بیولوژیکی و

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های اثر تنش خشکی و کود نیتروژن بر عملکرد کمی، درصد اسانس و تیموکینون در سیاهدانه

Table 3. Mean comparisons of the effect of drought stress and nitrogen fertilizer on quantitative yield, essential oil and content of thymoquinone in *Nigella Sativa*

Treatments	Grain yield (Kg.ha ⁻¹)	Biological yield	Branches per plant	Follicles per plant	Seeds per follicle	Seeds per plant	Seeds weight (gr)	Essential oil (%)	Thymo-quinone (%)
Water stress									
W ₁ [§]	703.2a	2900a	44.1a	37.04a	78.2a	2941a	1.78a	0.087d	28.14d
W ₂	700.2a	2366b	41.1a	31.3b	73.8a	2318b	1.75a	0.095c	30.57c
W ₃	496.7b	1985c	30.9b	18.9c	62.6b	1202c	1.74a	0.103b	31.28b
W ₄	414.9c	1767c	33.4b	15.3c	47.6c	730d	1.54b	0.115a	33.66a
Nitrogen									
N ₁ [£]	505.1c	2013b	34.7b	22.6c	56.9b	1362b	1.63b	0.086d	29.57b
N ₂	566bc	2188a	34.9b	23.5bc	60.6b	1505b	1.68a	0.094c	29.98b
N ₃	636.7a	2371ab	38.9a	27.2ab	73.6a	2128a	1.76a	0.105b	32.24a
N ₄	607.2ab	2447a	41.1a	29.2a	70.9a	2197a	1.75a	0.116a	31.86a

در هر ستون و برای هر تیمار، دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند. Means, in each column and for each treatment, followed by at least one similar letter are not significantly different at 5% probability level- using Duncan Multiple Range Test

[§] W₁ = شاهد (آبیاری کامل)، W₂ = قطع آبیاری در مرحله ساقه رفتن تا شروع گلدهی، W₃ = قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا شروع پر شدن دانهها و W₄ = قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای مرحله پر شدن دانهها

[£] W₁=Control, W₂ = no Irrigation at stem elongation stage to flowering, W₃ =Irrigation at flowering stage until the beginning of grain filling and W₄=no Irrigation at flowering and grain filling period

[£] N₁= شاهد (بدون مصرف هیچ نوع کود)، N₂ = ۳۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار، N₃ = ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و N₄ = ۹۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار

[£] N₁ =control, N₂ =30 kg N.ha⁻¹, N₃ =60 kg N.ha⁻¹ and N₄ = 90 kg N.ha⁻¹

صورت معنی‌داری سبب افزایش ماده مؤثره، روغن و تیموکینون در گیاه سیاهدانه شود (El-Sayed et al., 2000).

اثر متقابل تنش خشکی و تیمار کودی نیتروژن بر درصد تیموکینون و درصد اسانس معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین درصد تیموکینون و اسانس مربوط به تیمار قطع آبیاری در مراحل گلدهی و پر شدن دانه با مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و کمترین آن مربوط به تیمار آبیاری کامل بدون مصرف کود نیتروژن بود.

تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک تمایل به افزایش نشان می‌دهد. امروزه فرضیه‌ای با عنوان فرضیه موازنه رشد-تمایز مطرح شده که بیان می‌کند هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه را گیاهان افزایش می‌دهد (Herms and Mattson, 1992). در تحقیقی بر روی گیاهچه ریحان مشخص گردید، با اعمال تنش خشکی، میزان اسانس برگ‌های تازه از ۳/۱ به ۶/۲ میکرولیتر در وزن خشک گیاه افزایش می‌یابد (Simon et al., 1992).

در مورد تأثیر نیتروژن بر درصد اسانس محققین نشان دادند که کود نیتروژن بر درصد اسانس بایونه تأثیر معنی‌داری دارد و سبب افزایش آن می‌شود (Tohidynejad et al., 2008). فرنز (Franz, 1983) اظهار داشت که میزان اسانس بایونه با افزایش کود نیتروژن و فسفر افزایش می‌یابد و با کاربرد کود پتاسیم کاهش می‌یابد. نیتروژن در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس و بیوسنتز اسانس و مواد مؤثره در گیاهان دارویی نقش مهمی ایفا می‌کند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که قطع آبیاری در هر یک از مراحل رشدی گیاه سیاهدانه که توأم با بروز تنش خشکی بود توانست به صورت‌های مختلفی بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه و نیز میزان ماده مؤثره تولیدی در این گیاه تأثیر گذار باشد. هر چند قطع آبیاری در مرحله ساقه رفتن و گلدهی از عملکرد و اجزای عملکرد گیاه سیاهدانه کاست و بر درصد اسانس و درصد تیموکینون تولیدی افزود، اما بیشترین تأثیر تنش خشکی با قطع کامل آبیاری در مرحله گلدهی تا رسیدگی

در تحقیقی بر روی گلرنگ مشخص گردید که استفاده از کود نیتروژن تا سطح مناسب می‌تواند سبب افزایش رشد رویشی، تعداد شاخه‌های فرعی و در نتیجه تأثیر مثبت بر عملکرد دانه شود (Beech and Norman, 2002). در این بین مشخص شده تعداد میوه به عنوان اولین جزء عملکرد در گیاه کتان به شمار می‌رود و در تعیین عملکرد نهایی نقش به‌سزایی دارد. در واقع کپسول‌ها در گیاه کتان جایی هستند که مواد فتوسنتزی از برگ‌ها (منبع) به محل مصرف (دانه‌ها) و اندام‌های در حال نمو (میوه‌ها) حرکت می‌نمایند. در صورت عدم تعادل بین این دو و عدم دسترسی به عناصر غذایی مناسب همانند نیتروژن که نقش بسیار مهمی در تولید و سبز ماندن برگ‌ها دارد، عملکرد کاهش می‌یابد (Green, 2000; Garsid, 2004).

درصد اسانس و درصد تیموکینون

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اعمال تنش خشکی در مراحل مختلف رشد تأثیر معنی‌داری بر درصد اسانس و میزان تیموکینون موجود در دانه سیاهدانه دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد اعمال تنش خشکی در هر یک از مراحل رشدی نسبت به تیمار شاهد سبب افزایش درصد این دو ترکیب گردید. اما در این بین بیشترین درصد اسانس و تیموکینون در تیمار خشکی قطع آبیاری در مرحله گلدهی تا انتهای مرحله پر شده دانه‌ها بدست آمد. این افزایش برای درصد اسانس و تیموکینون نسبت به تیمار شاهد به ترتیب معادل ۲۴/۳ و ۱۶/۴ درصد بود (جدول ۳). مشابه نتایج این آزمایش مشخص شده که در گیاهان دارویی، تنش خشکی سبب افزایش مواد مؤثره آن‌ها می‌شود. این مطلب در گیاهان گل‌راعی (*Hypericum brasiliense*)، ریحان (*Ocimum americanum L.*) و مرزه (*Satureja hortensis L.*) به اثبات رسیده است (Abreu and Mazzafera, 2005; Khalid, 2006; Lebaschi et al., 2003).

تیمار کودی نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر درصد اسانس و تیموکینون تولیدی در سیاهدانه داشت (جدول ۲). بیشترین درصد تیموکینون در تیمار کودی ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و درصد اسانس در تیمار کودی ۹۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار بدست آمد (جدول ۳). گزارش شده استفاده و بکارگیری ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از هر کدام از کودهای نیتروژن و فسفر می‌تواند به

افزایش میزان تیموکینون و درصد اسانس گردید. بالاترین این افزایش با مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار بدست آمد.

دانه‌ها رخ داد که سبب کاهش بسیار معنی‌داری در عملکرد دانه تولیدی سیاهدانه شد. استفاده از کود نیتروژن در این آزمایش با تأثیر مثبتی که بر هر یک از اجزای عملکرد دانه داشت در نهایت سبب افزایش عملکرد دانه در سیاهدانه و

منابع

- Abreu, I.N., Mazzafera, P., 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiol. Biochem.* 43, 241-248.
- Almond, J.A., Dawkins, T.C.K., Askew, M.F., 1986. Aspects of crop husbandry. pp. 127-175. In : Scarisbrick, D.H., Daniels, R.W. (eds.), *Oilseed rape*. Collins, London. UK.
- Arganosa, G.C., F.W. Sosulski, Slikar, A.E., 1998. Effect of nitrogen levels and harvesting management on quality of oil in *Calendula officinalis*. *Indian Perfumer.* 33(3), 182-195.
- Babaei, A., 1995. Effects of water stress at different growth stages on the quantity and of essential oil and oil content of *Nigella Sativa*. MSc Thesis of Plant Science. Azad University, North Branch of Tehran. [In Persian].
- Beech, D. F., Norman, M. J. T., 2002. The effect of wet-season land treatment and nitrogen fertilizer on safflower, linseed, and wheat in the Ord River Valley. *Aust. J. Experi. Agri and Animal. Husb.* 8, 72-80.
- Chaudhry, M.A., Rehman, A., Naeem, M.A., Mushtaq, N., 1999. Effect of organic and inorganic fertilizers on nutrient contents and some properties of eroded loess soils. *Pak. J. Soil. Sci.* 16, 63-68.
- Delkhosh, B., Shirani Rad, A.H., Noormohammadi, G., Dervish, F., 2004. Effect of drought stress on yield and some agronomic and physiological traits of rapeseed cultivars. *J. Agric. Sci.* 2, 166-177. [In Persian with English summary].
- El-Sayed, K.A., Ross, S.A., El-Sohly, M.A., Khalafall, M.M., Abdel Halim, O.B., Ikegami, F., 2000. Effect of different fertilizers on the amino acid, fatty acid and essential oil composition of *Nigella sativa* seeds. *Saudi Pharma. J.* 8, 175-182.
- Franz, C. h., 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. *Acta Horti.* 132, 203-216.
- Garsid, A., 2004. Sowing time effects on the development, yield and oil of flaxseed in semi arid tropical. *Aust. J. Prod. Agric.* 23, 607-612.
- Green, A., 2000. Variation for oil quantity and quality in flaxseed. *Aust. J. Agric. Res.* 32, 599-607.
- Hassani, A., 2005. Effect of water deficit on growth, yield and essential oil herb Badrshbov. *Iran. J. Medic. Aroma. Plants.* 22(3), 256-261. [In Persian with English summary].
- Herms, D.A., Mattson W.J., 1992. The dilemma of plants: To grow or defend. *Quart. Rev. Biol.* 67:283 – 325.
- Jain, P.M., 1990. Effect of split application of nitrogen on fennel. *Indian J. Agron.* 35, 111-121.

- Khalid, K. A., 2006. Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). Intern. Agrophysics. 20, 289-296.
- Koc, E., İslək, C., Üstun, A.S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University J. Sci. 23, 1-6.
- Lebaschi, M.H., Sharifi Ashourabadi, E., Mazaheri, D., 2003. Fluctuation of hypericin under water deficit. Pajouhesh-va-Sazandegi (in Agronomy and Horticulture), 16 (58), 44-51. [In Persian with English summary].
- Losak, T., Richter, R., 2004. Split nitrogen doses and their efficiency in poppy (*Papaver somniferum*L.) nutrition. Plant. Soil Environ. 50(11), 484-488.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M.A., Panneerselvam, R., 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 59(2), 141-149.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Academic Press. Ltd. London. 862 pages.
- Mozzafari, F., Ghorbanli, S., Babai, M., Farzami, A., 2000. The effect of water stress on the seed oil of *Nigella sativa* L. J. Essential Oil Res. 12, 36-38.
- Pavlikova, D., Balik, J., Vanek, V., Vostal, J., Sattin, S., 1994. Influence of different forms of N fertilizers on N uptake by poppy (*Papaver somniferum* L.). Proceedings of 3rd Congress Euro. Soci. Agron. Italy, 7-9 August: 204-205.
- Riaz, M., Syed, M., Chaudhary, F.M., 1996. Chemistry of the medicinal plants of the genus *Nigella*. Hamdard Medicus. 39, 40-45.
- Safi-Khani, F., Heidari Sharif Abad, H., Siadat, S.A., Sharifi, Ashorabadi, E., seyednejad, S.M., Abaszadeh, B., 2006. Drought effects on yield and morphological traits of *Dracocephalum moldavica* L. Iranian J. Medic. Aroma. Plants. 36(2), 183-190. [In Persian with English summary].
- Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J., Chares, D.J., 1992. Water stress induced alteration in essential oil content and composition of sweet basil. J. Essent. Oil Res. 4: 71 – 75.
- Singh, J., Patel, A.L., 1996. Water statues, gaseous exchange, prolin accumulation and yield of wheat in response to water stress. Ann. Bio. Ludhiana. 12, 77- 81.
- TohidiNejad, E., Korki, M., Mohamadinejad, G., Majidi, M.M., Ahmadi-Afzadi, M., 2008. The effect of planting date and nitrogen levels on performance and essence of Matricaria (*Matricaria chamomilla*). Electronic J. Agric. Nat. Resour. Gorgan. 1(1), 15-24. [In Persian with English Summary].
- Whitfield, D.M., Cornner, D.J., Hall, A.J., 1989. Carbon dioxide balance of sunflower subjected to water stress during grain filling. Field Crops Res. 20, 65-81.