

تأثیر کودهای زیستی و محلول پاشی نانو اکسید آهن بر عملکرد کمی و کیفی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)

مریم برومند سویری^{۱*}، مصطفی حیدری^۲، احمد غلامی^۳ و هادی قربانی^۳

۱- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترای زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران، پست الکترونیک: M.bromand68@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

۳- دانشیار، گروه آب و خاک، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۸

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر نانو اکسید آهن و انواع مختلفی از کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۶ در مزرعه دانشگاه صنعتی شاهرود اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل محلول پاشی نانو اکسید آهن در سه سطح ۰، ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر آب به عنوان فاکتور اول و پنج سطح کود زیستی شامل عدم مصرف کود زیستی (شاهد)، *G. intraradices*، *G. mosseae*، آزوسپریلیوم و ازتوباکتر به عنوان فاکتور دوم لحاظ شدند. نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد تیمارهای قارچی و باکتریایی منجر به افزایش معنی دار عملکرد دانه، اجزای عملکرد و همچنین غلظت عناصر نیتروژن و آهن دانه شد و در افزایش میزان اسانس، میزان تیموکینون اسانس و روغن دانه نیز تأثیر به سزایی داشتند که مؤثرترین آن قارچ *G. intraradices* بود که توانست تمامی صفات اندازه‌گیری شده را به طور قابل توجهی بهبود ببخشد. محلول پاشی نانو اکسید آهن تنها بر میزان اسانس، عملکرد بیولوژیک، محتوای آهن و نیتروژن دانه تأثیر مثبت و معنی دار داشت. به طوری که بیشترین میزان آهن و نیتروژن دانه با مصرف ۳ گرم نانو اکسید آهن در یک لیتر آب حاصل شد. این در حالیست که میزان اسانس، درصد تیموکینون اسانس، میزان روغن و همچنین عملکرد بیولوژیک در دو غلظت مصرفی تفاوت معنی داری با هم نداشتند. بنابراین به نظر می‌رسد که کاربرد غلظت کمتر نانو اکسید آهن (۱/۵ گرم در یک لیتر آب) با صرفه‌جویی در مصرف کود بدون کاهش معنی دار در صفات کیفی اندازه‌گیری شده به همراه قارچ *G. intraradices* می‌تواند سبب بهبود عملکرد کمی و کیفی در گیاه دارویی سیاهدانه شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، باکتری محرک رشد، تیموکینون، عملکرد دانه، قارچ میکوریزا.

مقدمه

یافته و مورد کشت و کار قرار می‌گیرند (Salehi surmaghi, 2008). به دلیل وجود خواص ضد باکتریایی و ضد انگلی در بذره‌های سیاهدانه، در ایران استفاده از این گیاه دارویی در طب سنتی سابقه‌ای بسیار طولانی دارد (Nickavar et al., 2003).

سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی است که به خانواده Ranunculaceae تعلق دارد. جنس *Nigella* در ایران شامل ۸ گونه می‌باشد که به طور طبیعی در نقاط مختلف کشور گسترش

منتول، منتون و ایزومنتون اسانس نعناع فلفی مشاهده شد. بدین ترتیب که مایه کوبی قارچ‌ها باعث افزایش اجزای مهم اسانس این گیاه دارویی مانند منتون و ایزومنتون گردید. در آزمایش Moghadam و همکاران (۲۰۱۵) محلول پاشی ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر نانو کلات آهن میزان اسانس را در گیاه ریحان به طور معنی داری افزایش داد.

گام مؤثر دیگر برای دستیابی به کشاورزی پایدار استفاده از نانو کودها به منظور کنترل دقیق آزادسازی عناصر غذایی در محیط زیست می باشد. استفاده از نانوکودها منجر به افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک و به حداقل رساندن اثرهای منفی ناشی از مصرف بیش از حد کود می شود. به تازگی مطالعه تأثیر تغذیه عناصر مورد نیاز به فرم نانو ذرات بر رشد و نمو گیاهان مورد توجه قرار گرفته و نتایج مثبتی نیز در این رابطه بدست آمده است. به عنوان مثال، Peyvandi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر نانو کلات آهن بر گیاه ریحان دریافتند که نانو کلات آهن در مقایسه با کلات آهن معمولی تأثیر مثبت بیشتری بر رشد کمی و کیفی این گیاه دارد. در مطالعه ای روی زعفران زراعی نیز گزارش شد که نانو کود کلات آهن باعث افزایش تعداد و وزن گل و وزن کلاله شد (Baghaie & Maleki, Farahani, 2014).

از آنجایی که در زمینه تأثیر تغذیه نانو اکسید آهن و همچنین تأثیر کودهای زیستی به عنوان جایگزینی برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی، در گیاه دارویی سیاهدانه بررسی جامعی انجام نشده است. از این رو هدف از این تحقیق بررسی دو غلظت مختلف محلول پاشی نانو اکسید آهن و چهار نوع کود زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد و چگونگی جذب عناصر نیتروژن و آهن و برخی خصوصیات کیفی در سیاهدانه شامل میزان اسانس و تیموکینون اسانس و همچنین میزان روغن در دانه گیاه دارویی سیاهدانه بود.

مواد و روش‌ها

این بررسی در سال ۱۳۹۶ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود واقع در منطقه بسطام با

در دهه های اخیر، تولید محصولات کشاورزی عمدتاً متکی بر مصرف نهاده های شیمیایی بوده که این امر منجر به بروز آلودگی های زیست محیطی شده است. کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای زیستی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر در مصرف نهاده های شیمیایی، یک راه حل مطلوب برای غلبه بر این مشکلات به شمار می آید. در واقع استفاده از کودهای زیستی یکی از راهکارهای مؤثر در حفظ کیفیت مطلوب خاک محسوب می گردد که باعث افزایش واکنش های مفید بین گیاه و میکروارگانیسم ها در ریزوسفر شده و توان گیاه را برای جذب بیشتر عناصر غذایی افزایش می دهد (Kokalis-Buerelle et al., 2006). از مهمترین باکتری های محرک رشد که امروزه در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته اند می توان به جنس آزوسپیریلوم و ازتوباکتر اشاره کرد. این باکتری های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه علاوه بر تثبیت نیتروژن باعث آزادسازی هورمون های گیاهی از جمله جیبرلیک اسید، سیتوکینین و اکسین می شوند که باعث تحریک رشد گیاه، افزایش فتوسنتز و افزایش جذب عناصر غذایی می گردد (Salehi et al., 2011). قارچ های میکوریزا نیز از مهمترین میکروارگانیسم های موجود در بیشتر خاک های تخریب نشده می باشند، به طوری که حدود ۷۰٪ از توده زنده جامعه میکروبی خاک ها را میسیلیوم این قارچ ها تشکیل می دهد. هیف های توسعه یافته قارچ های میکوریزا قادر به رشد در منافذ خاک بوده که ریشه های موئین و تارهای کشنده قادر به نفوذ در آنها نیستند، در نتیجه دسترسی گیاه به عناصر غیرمحرک مثل فسفر افزایش می یابد (Grant et al., 2002). Khoramdel و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که کودهای بیولوژیک ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و نیز میکوریزا می توانند منجر به بهبود سرعت رشد محصول و نیز تجمع ماده خشک سیاهدانه شوند. گزارش های زیادی در ارتباط با تأثیر مثبت کودهای زیستی در افزایش کمیّت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی نیز وجود دارد، به عنوان مثال در آزمایش Mahmoudzadeh و همکاران (۲۰۱۶) بیشترین تغییر در اثر تلقیح قارچ های میکوریزا آربوسکولار در اجزاء

از سطح دریا انجام شد. نتایج بدست آمده از تجزیه شیمیایی خاک در جدول ۱ آورده شده است.

طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۶۶ متر

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

بافت خاک	هدایت الکتریکی ($ds.m^{-1}$)	اسیدیته (PH)	شن (%)	رس (%)	لای (%)	مواد آلی (%)	پتاسیم (Ppm)	فسفر (Ppm)	نیتروژن (%)
لومی رسی	۱/۸	۷/۶۶	۲۴	۳۲	۴۴	۰/۳	۲۰۵	۱۹	۰/۱۱

پوشانده و بلافاصله آبیاری انجام شد. محلول پاشی نانو اکسید آهن در دو مرحله ساقه‌دهی و دو هفته بعد از محلول پاشی اول در هنگام غروب آفتاب انجام شد.

در پایان فصل رشد، هنگامی که رنگ بوته‌ها متمایل به زرد شده ولی هنوز فولیکول‌ها شکاف برنداشته بودند، ابتدا از هر کرت به‌طور تصادفی تعداد ۶ بوته انتخاب و صفات مورفولوژیکی (ارتفاع بوته)، تعداد شاخه جانبی، اجزای عملکرد (تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در فولیکول و وزن هزاردانه) اندازه‌گیری شدند. برای تعیین عملکرد نهایی، بعد از حذف اثر حاشیه‌ای، بوته‌های یک مترمربع وسط هر کرت برداشت شد و پس از خشک شدن در آون ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین شدند. وزن کل بوته به‌عنوان عملکرد بیولوژیکی برای هر واحد آزمایشی تعیین شد و بعد دانه‌های جدا شده توزین شدند و به‌عنوان عملکرد دانه آنالیز گردیدند.

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. برای این منظور ۳۰ گرم از بذرها خرد شده با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (۱:۱۰) را درون بالن مخصوص ریخته و اسانس‌گیری با دمای جوش آب به مدت ۳ ساعت انجام شد (Clevenger, 1926). درصد تیموکینون اسانس با استفاده از دستگاه (GC-Mass) مدل Hewlett Packard HP6890 اندازه‌گیری شد. ستون موئینه مورد استفاده به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، دمای استفاده شده ۲۹۰-۲۲۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت افزایش دما ۳ درجه در دقیقه، گاز حامل مورد استفاده هلیوم

آزمایش به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: محلول پاشی نانو اکسید آهن در ۳ سطح شاهد، ۱/۵ گرم نانو اکسید آهن در یک لیتر آب و سه گرم نانو اکسید آهن در یک لیتر آب به‌عنوان فاکتور اول و انواع مختلف کودهای زیستی شامل قارچ‌های میکوریزی *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* و دو نوع باکتری محرک رشد شامل *Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum* به‌همراه تیمار شاهد به‌عنوان فاکتور دوم بودند.

نانو اکسید آهن از شرکت نانو پیشگامان ایرانیان، قارچ‌های میکوریزی از شرکت زیست‌فناور توران شاهرود و همچنین دو گونه باکتری محرک رشد از شرکت دانش‌بنیان همیشه‌گران تهیه شدند. اندازه هر کرت در این آزمایش ۳×۳ متر، فاصله بین کرت‌ها ۰/۵ و فاصله بین بلوک‌ها ۲ متر در نظر گرفته شد. عملیات کاشت با فاصله بین و روی ردیف ۶۰ و ۵ سانتی‌متر و عملیات کاشت در تاریخ ۱۳۹۶/۲/۱ انجام گردید.

برای اعمال تیمارهای کود زیستی برای تلقیح بذرها با مایه تلقیح باکتری، با توجه به اینکه این مایه‌ها به شکل مایع بودند در تاریکی به‌نحوی بذرها با مایه مخلوط شدند که یک پوشش کاملاً یکنواخت روی سطح بذر تشکیل شود. برای اعمال قارچ‌های میکوریزی براساس نقشه طرح بعد از آماده‌سازی زمین و قبل از کشت بذرها به‌صورت شیاری ریخته شد. بذریاشی انجام شد و روی شیارها با خاک

گرفتند و کمترین مقدار اجزای عملکرد در تیمار شاهد (بدون تلقیح با کودهای زیستی) مشاهده شد. در این بین باکتری‌های محرک رشد هرچند سبب افزایش تعداد دانه در فولیکول شدند اما تفاوت معنی‌داری با شاهد (عدم مصرف کود زیستی) نداشتند (جدول ۳). افزایش اجزای عملکرد افزایش عملکرد را نیز به دنبال خواهد داشت، از این رو بیشترین میزان عملکرد دانه نیز به ترتیب از گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* (۲۰۵/۰۸ گرم در مترمربع)، ازتوباکتر *G. mosseae* (۱۸۵/۹۱ گرم در مترمربع)، ازتوباکتر (۱۳۱/۲۶ گرم در مترمربع) و آزوسپریلیوم (۱۲۸/۶۷ گرم در مترمربع) حاصل شد و کمترین مقدار نیز در تیمار شاهد (۱۰۲/۰۸ گرم در مترمربع) مشاهده شد (جدول ۳).

عملکرد بیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که عملکرد بیولوژیک تحت تأثیر جداگانه هر دو تیمار مورد بررسی، محلول پاشی نانو اکسید آهن ($P \leq 0.05$) و تلقیح با کودهای زیستی ($P \leq 0.01$) قرار گرفت. محلول پاشی نانو اکسید آهن تأثیر مثبت و معنی‌داری در افزایش عملکرد بیولوژیک داشت. با افزایش غلظت نانو اکسید آهن میزان عملکرد بیولوژیک افزایش یافت اما تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت مصرفی مشاهده نشد (جدول ۳).

تلقیح با کودهای زیستی نیز توانست میزان عملکرد بیولوژیک را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد (عدم مصرف کود زیستی) افزایش دهد. به طوری که بیشترین مقدار در گیاهان تلقیح شده با دو گونه قارچ میکوریزا *G. intraradices* (۴۰۰/۲۱ گرم در مترمربع) و *G. mosseae* (۳۸۵/۰۵ گرم در مترمربع) مشاهده شد. باکتری ازتوباکتر (۳۵۱/۷۳ گرم در مترمربع) و آزوسپریلیوم (۳۱۸/۰۶ گرم در مترمربع) به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند که کمترین مقدار هم در تیمار شاهد (۱۷۶/۷۱ گرم در مترمربع) مشاهده شد (جدول ۳).

با سرعت حرکت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. پیک‌های خروجی براساس استاندارد و جرم مولکولی تشخیص و تعیین مقدار گردیدند. برای تعیین درصد روغن از روش سوکسله و دستگاه سوکسله استفاده شد. برای شناسایی عناصر نیتروژن و آهن موجود در دانه گیاه، دانه‌ها پس از شستشو، به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک و آسیاب شدند. سپس برای شناسایی عنصر نیتروژن، پس از عصاره‌گیری به روش هضم در بالن ژوژه با اسید سولفوریک-اسید سالیسیلیک-آب اکسیژنه از روش کج‌دال استفاده گردید (Wahing et al., 1989).

برای شناسایی عنصر آهن، عصاره‌گیری به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید هیدروکلریک انجام شد و توسط دستگاه جذب اتمی میزان این عنصر در دانه گیاه اندازه‌گیری شد.

در پایان داده‌های بدست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه و مقایسه میانگین داده‌ها با روش LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. برای رسم نمودارها و جدول‌ها از برنامه EXCEL استفاده شد.

نتایج

عملکرد دانه و اجزای عملکرد

نتیجه تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی تنها تلقیح با کودهای زیستی اثر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاهدانه داشت. از بین کودهای زیستی مورد استفاده بیشترین اثر مربوط به قارچ میکوریزا گونه *G. intraradices* بود. همزیستی با این گونه از قارچ میکوریزا سبب بهبود چشمگیر اجزای عملکرد در گیاه سیاهدانه شد. به طوری که تعداد فولیکول در بوته، تعداد دانه در فولیکول و وزن هزاردانه به ترتیب ۷۹، ۲۵ و ۲۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. *G. mosseae* و باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی بر صفات اندازه گیری شده

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
عملکرد بیولوژیک	عملکرد دانه	وزن هزاردانه	تعداد دانه در کپسول	تعداد کپسول در بوته		
۴۳۳۸/۴**	۳۲۷/۹**	۰/۰۹۵**	۲۲۶/۴۹**	۱۰/۴۵**	۲	بلوک
۳۷۱۶/۴۳*	۵۳/۶۲ns	۰/۰۲۰ns	۳/۳۴ns	۱/۷۱ns	۲	نانو اکسید آهن
** ۸۷۸۶۵/۲	۳۶۲۹۲/۵۵**	۰/۰۶۰**	۱۰۱۹/۴۶**	۱۱۵۷/۳۰**	۴	کود زیستی
۳۶۴/۱ns	۳/۰۲۹ns	۰/۰۰۴ns	۴۹/۶۰ns	۰/۰۹ns	۸	نانو اکسید آهن × کود زیستی
۹۲۱/۵۲	۳۰/۳۹	۰/۰۱۴	۲۲/۹۵	۰/۹۶	۲۸	خطا
۹/۴۳	۳/۹۷	۵/۵۷	۸/۰۲	۳/۹۷		ضریب تغییرات

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

ادامه جدول ۲-

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
غلظت آهن دانه	غلظت نیتروژن دانه	میزان روغن دانه	میزان تیموکینون اسانس	میزان اسانس		
۸۰/۰۲ns	۰/۰۶۰ns	۰/۸۶	۲/۷۲	۰/۰۰۲	۲	بلوک
۱۰۱۶/۹۵**	۱/۱۸۳**	۱۶/۱۵*	۲۰/۹۲*	۰/۰۲۰*	۲	نانو اکسید آهن
۸۷۸۴/۱۴**	۳/۴۹۱**	۵۰/۳۵**	۳۸/۷۶**	۰/۰۳۸**	۴	کود زیستی
۸۸/۸۴ns	۰/۱۰۱ns	۰/۴۸ns	۷/۷۴ns	۰/۰۰۷ns	۸	نانو اکسید آهن × کود زیستی
۷۴/۸۰	۰/۰۸۸	۴/۴۳	۵/۸۹	۰/۰۰۵	۲۸	خطا
۸/۷۳	۷/۵۶	۹/۵۴	۷/۲۲	۷/۲۲		ضریب تغییرات

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

میزان اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان اسانس در گیاه دارویی سیاهدانه تحت تأثیر جداگانه هر دو تیمار مورد بررسی، محلول پاشی نانو اکسید آهن ($P \leq 0.05$) و تلقیح با کودهای زیستی ($P \leq 0.01$) قرار گرفت (جدول ۲). با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها با محلول پاشی نانو اکسید آهن میزان اسانس در گیاه سیاهدانه نسبت به شاهد با کمترین میزان اسانس (۱/۰۱٪) افزایش یافت. اما دو غلظت مورد استفاده ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن

(به ترتیب با میانگین‌های ۱/۰۷٪ و ۱/۰۸٪) تفاوت

معنی داری با هم نداشتند (جدول ۳).

در این آزمایش تیمار کودهای زیستی میزان اسانس را نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش داد و این افزایش در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا محسوس تر بود. با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) بیشترین میزان اسانس در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به ترتیب با میانگین‌های ۱/۱۳٪ و ۱/۱۱٪ مشاهده شد (جدول ۳).

تنها تحت تأثیر اثرهای جداگانه تیمارهای مورد بررسی محلول پاشی نانو اکسید آهن ($P \leq 0.05$) و کودهای زیستی ($P \leq 0.01$) قرار گرفت (جدول ۲).

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان روغن دانه با محلول پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن با میانگین ۲۲/۹۶٪ بدست آمد که با تیمار محلول پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانو اکسید آهن تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۳).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تلقیح با کودهای زیستی نیز در افزایش میزان روغن نسبت به شاهد مؤثر است. همچنین بین کودهای زیستی مختلف نیز تفاوت معنی داری وجود دارد. بدین ترتیب که بیشترین میزان روغن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices* حاصل شد. میزان روغن در گیاهان تلقیح شده با این قارچ در حدود ۳۰/۱۱٪ بیشتر از شاهد بود. بعد از این گونه از قارچ گیاهان تلقیح شده با *G. mosseae* و باکتری ازتوباکتر به میزان ۳۰/۱۱٪ و ۱۱/۳۳٪ نسبت به شاهد میزان روغن دانه بیشتری داشتند (جدول ۳).

میزان تیموکینون در اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که میزان تیموکینون اسانس سیاهدانه تحت تأثیر اثرهای جداگانه دو تیمار مورد بررسی محلول پاشی نانو اکسید آهن ($P \leq 0.05$) و کودهای زیستی ($P \leq 0.01$) معنی دار شد و اثر متقابل دو تیمار مورد بررسی تأثیر معنی داری بر میزان این صفت نداشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول پاشی نانو اکسید آهن میزان تیموکینون را نسبت به شاهد افزایش داد اما بین دو غلظت مصرفی ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر به ترتیب با میانگین‌های ۳۴/۱۱٪ و ۳۴/۴۳٪ تفاوت معنی داری مشاهده نشد در بین کودهای زیستی تلقیح با قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* به ترتیب با میانگین‌های ۳۶/۱۳٪ و ۳۵/۴۲٪ به‌طور معنی داری میزان تیموکینون را نسبت به باکتری‌های محرک رشد و شرایط بدون تلقیح افزایش دادند (جدول ۳).

میزان روغن دانه

تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که درصد روغن سیاهدانه

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های تأثیر کودهای زیستی و محلول پاشی نانو اکسید آهن بر صفات اندازه‌گیری شده

عملکرد بیولوژیک	عملکرد دانه	وزن	تعداد دانه	تعداد کپسول	
(gr/m ²)	(gr/m ²)	هزاردانه	در کپسول	در بوته	
محلول پاشی نانو اکسید آهن (g/L)					
۳۰۳/۸۹ b	۱۳۸/۹۷ a	۲/۱۳ a	۵۹/۱۴ a	۲۴/۸۱ a	شاهد
۳۲۸/۷۸ a	۱۴۰/۲۸ a	۲/۱۴ a	۶۰/۰۲ a	۲۵/۰۵ a	۱/۵
۳۳۳/۰۵ a	۱۳۶/۵۵ a	۲/۲۰ a	۵۹/۸۷ a	۲۴/۳۸ a	۳
کود زیستی					
۱۷۶/۷۱ d	۱۰۲/۰۸ d	۱/۷۸ c	۵۳/۳۹ b	۷/۵۱ d	شاهد
۴۰۰/۲۱ a	۲۰۵/۰۸ a	۲/۴۰ a	۷۱/۷۴ a	۳۶/۶۲ a	<i>G. intraradices</i>
۳۸۵/۰۵ a	۱۸۵/۹۱ b	۲/۴۰ a	۷۰/۶۰ a	۳۳/۲۰ b	<i>G. mosseae</i>
۳۱۸/۰۶ c	۱۲۸/۶۷ c	۲/۱۰ b	۵۳/۴۲ b	۲۲/۹۷ c	<i>Azospirillum</i>
۳۵۱/۷۳ b	۱۳۱/۲۶ c	۲/۰۹ b	۴۹/۲۱ b	۲۳/۴۴ c	<i>Azotobacter</i>

ادامه جدول ۳-

غلظت نیتروژن دانه (%)	غلظت آهن دانه (ppm)	تیموکینون اسانس (گرم در مترمربع)	میزان اسانس (%)	میزان روغن (%)	
محلول پاشی نانو اکسید آهن (g/L)					
۳/۶۳ c	۹۰/۸۶ c	۳۲/۲۵ b	۱/۰۱ b	۲۰/۹۸ b	شاهد
۳/۹۳ b	۹۸/۹۳ b	۳۴/۱۱ a	۱/۰۷ a	۲۲/۲۷ ab	۱/۵
۴/۱۹ a	۱۰۷/۳۳ a	۳۴/۴۳ a	۱/۰۸ a	۲۲/۹۶ a	۳
کود زیستی					
۳/۲۲ d	۸۳/۲۲ d	۳۱/۸۵ b	۰/۹۹ b	۱۹/۷۶ d	شاهد
۴/۷۴ a	۱۲۴/۱۱ a	۳۶/۱۳ a	۱/۱۳ a	۲۵/۷۱ a	<i>G. intraradices</i>
۴/۳۸ b	۱۱۳/۰۰ b	۳۵/۴۲ a	۱/۱۱ a	۲۲/۶۶ b	<i>G. mosseae</i>
۳/۶۵ c	۱۰۴/۰۰ c	۳۱/۵۷ b	۱/۰۳ b	۲۰/۲۱ cd	<i>Azospirillum</i>
۳/۶۱ c	۸۵/۸۸ d	۳۳/۰۲ b	۰/۹۹ b	۲۲/۰۰ bc	<i>Azotobacter</i>

محرك رشد و كمترین مقدار نیز در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

بحث

در این آزمایش تیمار کودهای زیستی توانست اجزای عملکرد و عملکرد دانه را در گیاه سیاهدانه به طور معنی داری افزایش دهد که در این بین قارچ *G. intraradices* از بیشترین تأثیر برخوردار بود. چنین به نظر می رسد که به دلیل توسعه سیستم ریشه ای گیاهان همزیست با قارچ های میکوریزا، دسترسی به منابع موجود از جمله رطوبت و عناصر غذایی به ویژه فسفر افزایش می یابد و به دنبال آن باعث بهبود رشد و در نتیجه افزایش عملکرد گونه های همزیست در مقایسه با شاهد می شود (Koocheki et al., 2015). Khoramdel و همکاران (۲۰۱۰) نیز بهبود خصوصیات رشدی و اجزای عملکرد را در گیاه دارویی سیاهدانه تلقیح شده با قارچ های میکوریزا گزارش کردند. همچنین همزیستی با میکوریزا به دلیل افزایش و مدت فتوسنتز باعث افزایش بازدهی انتقال مواد فتوسنتزی

غلظت نیتروژن و آهن دانه

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که محلول پاشی نانو اکسید آهن تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) بر میزان آهن و نیتروژن دانه سیاهدانه داشت (جدول ۲). در این آزمایش مشخص گردید با محلول پاشی نانو اکسید آهن بر میزان آهن و نیتروژن دانه نسبت به شاهد افزوده شد. همچنین با افزایش غلظت نانو اکسید آهن از ۱/۵ گرم به ۳ گرم نیز افزایش معنی داری در غلظت این دو عنصر در دانه سیاهدانه مشاهده شد (جدول ۳).

در این آزمایش تلقیح گیاه سیاهدانه با کودهای زیستی تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) در میزان عناصر آهن و نیتروژن دانه داشت (جدول ۲). بیشترین میزان آهن از تلقیح گیاه با قارچ *G. intraradices* حاصل شد و قارچ *G. mosseae* و باکتری آزوسپیریلیوم در رتبه بعدی قرار گرفتند و کمترین میزان آهن نیز در گیاهان تلقیح شده با باکتری ازتوباکتر و تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان نیتروژن دانه نیز به ترتیب در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. intraradices*، *G. mosseae* و باکتری های

دانه افزوده می‌شود و دلیل این افزایش را نتیجه بهبود تولید آسیمیلات‌های ناشی از فتوسنتز جاری و همچنین انتقال دوباره و مطلوب مواد به دانه بیان کردند.

مصرف کودهای زیستی به‌ویژه قارچ میکوریزا *G. intraradices* توانست میزان جذب عناصر اندازه‌گیری شده شامل آهن و نیتروژن را نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۴۹/۱۳٪ و ۴۷/۲۰٪ نسبت به شاهد افزایش دهد. دلیل اصلی افزایش جذب آهن در تیمارهای قارچی و باکتریایی، ترشح سیدروفورهای میکروبی می‌باشد. به دلیل حضور سیدروفورها، قابلیت استفاده و تحرک آهن در محیط ریشه افزایش یافته و کمپلکس سیدروفور- آهن تشکیل شده که می‌تواند در محلول خاک همراه با جریان توده‌ای به سطح ریشه برسد و آهن جذب گردد (Yehuda et al., 1996). قارچ‌های میکوریزا با تحریک بیان آنزیم نیترازدکتاز (افزایش جذب نیتروژن به فرم نترات یا آمونیوم توسط میسلبیوم‌های خارجی قارچ با مصرف نترات توسط آنزیم نیترازدکتاز) و افزایش سطوح آنزیم دیکینازگلوکان (برای جلوگیری از رشد پاتوژن‌های گیاهی) سبب افزایش جذب این عنصر می‌شوند (Darzi et al., 2009). علاوه بر اینها این ریزجانداران با توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و از طریق تجزیه سیلیکات‌ها و انحلال کانی‌ها باعث افزایش در میزان جذب عناصر کم مصرف و پر مصرف در اندام هوایی می‌شوند (Shadi et al., 1984).

نتایج این آزمایش نشان داد که محلول پاشی نانو اکسید آهن میزان اسانس و تیموکینون اسانس را در گیاه دارویی سیاهدانه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. به نظر می‌رسد با توجه به تأثیر عنصر آهن در رشد و نمو گیاه، می‌توان یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر این عنصر در ساختمان کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح کننده اسانس در برگ منجر شود و بدین ترتیب سبب تولید بیشتر اجزای اسانس در گیاه گردد (Dubey et al., 2003). علاوه بر محلول پاشی نانو اکسید آهن قارچ‌های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae*

به دانه‌ها شده (Copetta et al., 2006) که گویای دلیل افزایش وزن هزاردانه در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا در این آزمایش می‌باشد. بنابراین افزایش اجزای عملکرد و در نهایت عملکرد گیاه سیاهدانه تلقیح شده با قارچ میکوریزا (به‌ویژه *G. intraradices*) در این آزمایش دور از انتظار نبوده و می‌تواند در بین تیمارهای مورد بررسی به‌عنوان بهترین تیمار برای افزایش عملکرد در گیاه دارویی سیاهدانه انتخاب شود.

محلول پاشی نانو اکسید آهن و کودهای زیستی هریک به‌طور جداگانه توانستند میزان عملکرد بیولوژیک را در گیاه سیاهدانه افزایش دهند که دلیل این افزایش در شرایط محلول پاشی نانو آهن می‌تواند گسترش سطح برگ و افزایش توان فتوسنتزی گیاه و به دنبال آن بزرگتر شدن ساختارهای رویشی، افزایش وزن و قطر ساقه‌ها، تولید تعداد بیشتری خورجین و در نهایت افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه و همچنین عملکرد دانه باشد (Bayati et al., 2014). علاوه بر این تلقیح با کودهای زیستی به‌ویژه قارچ‌های میکوریزا، از طریق بهبود میزان جذب عناصر غذایی و افزایش فتوسنتز سبب افزایش عملکرد دانه و اجزای عملکرد شدند که افزایش هریک از این اندام‌ها افزایش بیوماس را به دنبال خواهد داشت. از آنجایی که همزیستی با قارچ‌های میکوریزا تأثیر مثبتی در افزایش وزن خشک اندام‌های مختلف را به دنبال داشت، افزایش عملکرد بیولوژیک تحت تأثیر این تیمار دور از انتظار نخواهد بود.

در این آزمایش محلول پاشی نانو اکسید آهن تأثیر مثبت و معنی‌داری در افزایش غلظت عناصر آهن و نیتروژن در دانه داشت. محلول پاشی ۳ گرم در لیتر نانو اکسید آهن میزان نیتروژن و آهن را در دانه به ترتیب به میزان ۱۵/۴۲٪ و ۱۸/۱۲٪ نسبت به شاهد افزایش داد. El-Fouly و همکاران (۲۰۱۱) نیز بیان کردند که محلول پاشی آهن و منگنز سبب افزایش غلظت پتاسیم، نیتروژن، آهن و منگنز در اندام هوایی و دانه گندم شد. Bayati و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایشی با بررسی غلظت‌های مختلف نانو آهن در گیاه کلزا نشان دادند که با افزایش غلظت نانو آهن بر میزان آهن

باشد. محلول پاشی نانو اکسید آهن بر جذب نیتروژن و آهن دانه ($P \leq 0.01$) و همچنین عملکرد بیولوژیک و میزان اسانس، میزان تیموکینون اسانس و میزان روغن دانه ($P \leq 0.05$) تأثیر مثبت داشت. از آنجایی که بین دو غلظت مصرفی نانو اکسید آهن در میزان اسانس، تیموکینون اسانس، میزان روغن و همچنین عملکرد بیولوژیک تفاوت معنی داری مشاهده نشد، از این رو به نظر می رسد انتخاب غلظت کمتر از این کود بدون کاهش معنی دار در خصوصیات کیفی این گیاه دارویی به همراه قارچ *G. intraradices* به عنوان تیماری برای افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سیاهدانه قابل توصیه می باشد.

منابع مورد استفاده

- Baghaie, N. and Maleki Farahani, S., 2014. Comparison of nano and micro chelated iron fertilizers on quantitative yield and assimilates allocation of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Saffron Research*, 1(2): 156-169.
- Bayati, F., Aynehband, A. and Fateh, E., 2014. Effect of different rates and application times of nano-iron on yield and yield components of canola (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Agricultural Research*, 12(4): 805-812.
- Clevenger, J.F., 1928. Apparatus for determination of essential oil. *Journal of the American Pharmacists Association*, 17: 346-349.
- Copetta, A., Lingua, G. and Berta, G., 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza*, 16: 485-494.
- Darzi, M., Ghalavand, A. and Rejali, F., 2009. The effects of biofertilizers application on N, P, K assimilation and seed yield in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(1): 1-19.
- Dubey, V.S., Bhalla, R. and Lithra, R., 2003. Sucrose mobilization in relation to essential oil biogenesis during palmarosa (*Cymbopogon martini* Roxb. Wats. var. motia) inflorescence development. *Bois sciences*, 28(4): 479-487.
- El-Fouly, M.M., Mobarak, Z.M. and Salama, Z.A., 2011. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum*

به ترتیب سبب افزایش ۱۴/۱۴ و ۱۲/۱۲ درصدی میزان اسانس سیاهدانه نسبت به شاهد شدند. همچنین میزان تیموکینون اسانس نیز در گیاهان تلقیح شده با این قارچ ها به ترتیب به میزان ۳۶/۱۳٪ و ۳۵/۴۲٪ نسبت به شاهد افزایش یافت. در تفسیر نتایج بدست آمده از این تحقیق برخی محققان بیان کردند از آنجایی که اسانس ها ترکیب های ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آنها (ایزوپروئوئیدی) مانند ایزوبنتیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP)، نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب های اخیر ضروری می باشد (Loomis & Correau, 1990). از این رو کودهای زیستی از طریق جذب کارآمد فسفر و تا حدودی نیتروژن توسط ریشه سیاهدانه، موجب افزایش اجزای اسانس و اسانس این گیاه دارویی شدند.

محلول پاشی نانو اکسید آهن با غلظت ۳ گرم در لیتر و ۱/۵ گرم در لیتر به ترتیب توانست به میزان ۶/۱۴٪ و ۹/۴۳٪ میزان روغن دانه سیاهدانه را نسبت به شاهد افزایش دهد. Singh و Sinha (۲۰۰۵) گزارش کردند که کاربرد آهن در مقایسه با شاهد به طور معنی داری درصد روغن دانه کلزا را بهبود داد. این پژوهشگران بهبود درصد روغن را ناشی از تأثیر مثبت آهن در فرایند تشکیل اسیدهای چرب بیان کردند.

تلقیح با قارچ های میکوریزا *G. intraradices* و *G. mosseae* در افزایش میزان روغن دانه نیز تأثیر به سزایی داشتند. Samsami و همکاران (۲۰۱۹) نیز نتایج مشابه این آزمایش را گزارش کردند، در آزمایش آنان تلقیح با قارچ *G. intraradices* و *G. mosseae* در مقایسه با عدم تلقیح میکوریزا عملکرد روغن را در سویا به ترتیب ۱۲٪ و ۲۰٪ افزایش داد.

به طور کلی از نتایج حاصل از این آزمایش می توان بیان کرد که در بین تیمارهای مورد بررسی قارچ *G. intraradices* می تواند تأثیر مثبتی در افزایش اجزای عملکرد و عملکرد دانه، جذب عناصر و میزان اسانس داشته

- fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Naturforsch*, 58: 629-631.
- Peyvandi, M., Parande, H. and Mirza, M., 2011. The comparison of iron Nano chelates effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 1(4): 19-31.
 - Salehi Surmaghi, M.H., 2008. *Herbal Medicine and Herbal Therapy*. Donyay Taghzieh press, Tehran Iran, 434p.
 - Salehi, A., Ghalavand, A., Sefidkon, F. and Asgharzade, A., 2011. The effect of zeolite, PGPR and vermicompost application on N, P, K concentration, essential oil content and yield in organic cultivation of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 27(2): 188-201.
 - Samsami, N., Nakhzari Moghaddam, A., Rahemi Karizaki, A. and Gholinezhad, E., 2019. Effect of mycorrhizal fungi and rhizobium bacterial on qualitative and quantitative traits of soybean in response to drought stress. *Journal of Agricultural Crops Production*, 21(1): 13-26.
 - Shadi, M.A., Ibrahim, I. and Afify, A.H., 1984. Mobilization of elements and their effects on certain plant growth characteristics as influenced by some silicate bacteria. *Egyptian Journal of Botany*, 27(1-7): 17-30.
 - Singh, S. and Sinha, S., 2005. Accumulation of metals and its effects in (*Brassica juncea* L.) Czern. (cv. Rohini) grown on various amendments of tannery waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62: 118-127.
 - Wahing, I.W., Van, V.J.G., Houba, J. and Vanderlee, J., 1989. *Soil and Plant Analysis, A Series of Syllabi. Part 7, Plant Analysis Procedure*. Wageningen Agriculture University.
 - Yehuda, Z., Shenker, M., Romheld, V., Hadar, Y. and Chen, Y., 1996. The role of ligand exchange in the uptake of iron from microbial siderophores by gramineous plants. *Plant Physiology*, 112: 1273-128.
 - *aestivum* L. *African Journal of Plant Science*, 5: 314-322.
 - Grant, C.A., Peterson, G.A. and Capbell, C.A., 2002. Nutrient consideration for diversified cropping systems in the northern great plains. *Agronomy Journal*, 94: 186-198.
 - Khoramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M. and Ghorbani, R., 2010. Inoculation effects with biofertilizers on the yield and yield components in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 8(5): 758-766.
 - Kokalis-Buerelle, N., Kloepper, J.W. and Reddy, M.S., 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their affects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Journal of Applied Soil Ecology*, 31: 91-100.
 - Koocheki, A., J Shabahang, J., Khorramdel, S. and Najafi, M., 2015. Effects of mycorrhiza inoculation and different irrigation levels on yield, yield components and essential oil contents of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and ajwain (*Trachyspermum ammi* L.). *Agroecology*, 7(1): 20-37.
 - Loomis, W.D. and Croteau, R., 1990. Essential oil biosynthesis. *Recent Advances in Phytochemistry*, 6: 147-185.
 - Mahmoudzadeh, M., Rasouli Sadaghiani, M. and Asgari Lajayer, H., 2016. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth characteristics and concentration of macronutrients in peppermint (*Mentha piperita* L.) under greenhouse conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 6(24): 155-167.
 - Moghadam, E., Mahmoodi Sourestani, M., Farrokhian Firozi, A., Ramazani Z. and Eskandari, F., 2015. The effect of foliar application of iron chelate type on morphological traits and essential oil content of holy basil. *Journal of Crop Improvement*, 17(3): 595-606.
 - Nickavar, B., Mojab, F., Javidnia, K. and Roodgar Amoli, M.A., 2003. Chemical composition of the

Effects of biofertilizers and foliar application of nano iron oxide on quantitative and qualitative yield of black Cumin (*Nigella sativa* L.)

M. Bromand Sivieri^{1*}, M. Heidary², A. Gholami² and H. Ghorbani³

1*- Corresponding author, Ph.D. student of Agronomy, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

E-mail: M.bromand68@yahoo.com

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

3- Department of Soil and Water, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

Received: April 2019

Revised: November 2019

Accepted: November 2019

Abstract

In order to study the effects of nano iron oxide and different biofertilizers on the quantitative and qualitative yield of black cumin (*Nigella sativa* L.), a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications was conducted in the research field of Shahrood Industrial University in 2017 growing season. Experimental treatments included the foliar spray of nano iron oxide at three levels of 0, 1.5 and 3 g L⁻¹ as the first factor and five levels of biofertilizer including no biofertilizer (control), *Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *Azospirillum*, and *Azotobacter* as the second factor. The results of this experiment showed that the application of fungal and bacterial treatments significantly increased the grain yield and yield components as well as the concentration of nitrogen and iron in seed, and also had a significant effect on increasing essential oil content, thymoquinone content of the essential oil, and seed oil. The most effective treatment was *G. intraradices*, which was able to significantly improve all traits measured. The foliar application of nano iron oxide had a significant and positive effect only on the essential oil content, biological yield, and iron and nitrogen content of the seed. The highest amount of iron and nitrogen content of the seed was obtained in nano iron oxide treatment at 3 g L⁻¹ level. However, the essential oil content, essential oil thymoquinone percentage, seed oil content, and also biological yield did not differ significantly between the two concentrations of nano iron oxide. Therefore, it seems that the application of a lower concentration of nano iron oxide (1.5 g L⁻¹) together with *G. intraradices* can improve the quantitative and qualitative yield in the medicinal plant black cumin by saving fertilizer consumption without a significant decrease in the qualitative traits measured.

Keyword: Essential oil, growth promoting bacteria, thymoquinone, seed yield, mycorrhizal fungi.