

10.22092/IJMAPR.2021.354715.2995

شناسه دیجیتال (DOI):

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

20.1001.1.17350905.1400.37.5.7.6

شناسه دیجیتال (DOR):

جلد ۳۷، شماره ۵، صفحه ۸۲۱-۸۰۹ (۱۴۰۰)

## تأثیر هیومیک اسید و نانوکلات آهن بر محتوای اسمولیت‌های سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در شرایط تنش خشکی

عزیز حیاتی<sup>۱</sup>، محمدمهدی رحیمی<sup>۲\*</sup>، عبدالصمد کلیدری<sup>۳</sup> و سید ماشاله حسینی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکترا، گروه زراعت، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زراعت، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران، پست الکترونیک: m.rahimi1351@yahoo.com

۳- استادیار، گروه زراعت، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

۴- دانشیار، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۰

### چکیده

دانه گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در طب سنتی بسیاری از کشورها جهت پیشگیری و درمان بسیاری از اختلالات و بیماری‌ها از جمله سرفه، آسم، احتناق بینی، سردرد، دندان درد، کرم‌های روده‌ای، اختلالات قاعدگی، بیماری‌های گوارشی و ناتوانی جنسی مصرف می‌شود. به‌منظور بررسی تأثیر اسید هیومیک و نانوکلات آهن در شرایط تنش خشکی بر محتوای اسمولیت‌های محافظت‌کننده اسمزی از جمله گلوکز، فروکتوز، ساکاروز، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز گیاه دارویی سیاهدانه، آزمایشی طی دو سال زراعی ۹۷-۹۸ و ۹۸-۹۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان اقلید انجام شد. این آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تیمار در سه تکرار صورت گرفت. کرت اصلی شامل سه سطح آبیاری (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد آب قابل دسترس) و فاکتورهای فرعی شامل اسید هیومیک (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نانوکلات آهن (صفر، ۱ و ۲ گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد که اثر تیمارهای آبیاری، اسید هیومیک و کلات آهن بر محتوای کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکز و پراکسیداز، اثر تیمارهای آبیاری بر محتوای پرولین و اثر تیمارهای آبیاری و اسید هیومیک بر محتوای ساکاروز و فروکتوز معنی‌دار بود. در تیمار ۵۰٪ تنش خشکی، محتوای تمام اسمولیت‌های محافظت‌کننده بالا رفت. در تیمار تنش خشکی ۵۰٪، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن، بیشترین میزان گلوکز، فروکتوز و ساکاروز بدست آمد. به‌طور کلی براساس نتایج این آزمایش، استفاده از کود اسید هیومیک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نانوکلات آهن (۲ گرم در لیتر) به‌منظور کاهش اثرات تنش خشکی بر گیاه سیاهدانه پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کاتالاز، پراکسیداز، پرولین، هیومیک اسید، فروکتوز.

## مقدمه

سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده آلاله است. این گیاه دو لپه علفی یک‌ساله و ساقه و ریشه‌های راست و منشعب دارد. ارتفاع گیاه ۶۰ تا ۷۰ سانتی‌متر، برگ‌ها دارای بریدگی نخی، برگچه‌های ریز، گل‌های زیبا به رنگ سفید خاکستری تا آبی با پرچم‌های متعدد می‌باشد (Abedi & Pakniyat, 2010). سیاه‌دانه به‌طور وسیع در درمان آسم، سردرد، اسهال خونی، عفونت‌ها، چاقی، کمردرد، فشار خون و مشکلات گوارشی در خاورمیانه و خاور دور استفاده می‌شود و به‌صورت موضعی در درمان آبسه، زخم‌های بینی و روماتیسم کاربرد دارد (Haji Sharifi, 2003). خشکی یکی از مهمترین عوامل تنش‌زا بوده که تولید محصولات را در سطح جهانی کاهش می‌دهد. کشور ایران دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک است و میانگین بارندگی آن در حد یک سوم میانگین جهانی می‌باشد، بنابراین با تنش‌های خشکی و خشکسالی‌های متناوبی درگیر است. خشکی یکی از مهمترین بازدارنده‌های تولید گیاهان در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا به‌شمار می‌رود (Reddy et al., 2004). براساس گزارش Salman و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر هیومیک اسید باعث افزایش عملکرد و کیفیت در تمام هیبریدهای هندوانه مورد آزمایش شد. همچنین بررسی‌های متعددی در زمینه کاربرد کلات آهن در افزایش کلروفیل و سطح برگ، مؤید آن است که کمبود آهن همواره موجب از بین رفتن کلروفیل و تخریب ساختمان کلروپلاست و کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیداز مانند کاتالاز و پراکسیداز می‌گردد (Zuo & Zhang, 2011). کاهش آب در دسترس گیاهان باعث تغییر در فشار تورژسانس سلول‌های گیاهی شده و این موضوع به نوبه خود باعث کاهش رشد و گسترش سلول‌های برگ می‌شود (Sequera-Mutiozabal et al., 2016). در شرایط تنش خشکی، گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن، سوپر اکسید و رادیکال هیدروکسیل تجمع می‌یابند. گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و ... ایجاد تنش ثانویه اکسیداتیو کرده که منجر به خسارتهای جدی به

ساختارهای سلولی می‌شود. گونه‌های گیاهی مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو القاء شده توسط تنش کم‌آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (Hosseini et al., 2012). Boldaji Trevisan و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که ترکیب‌های هیومیکی به دلیل فعالیت‌های هورمونی با افزایش وزن ریشه، بازدهی فتوسنتزی و سطح آنتی‌اکسیدان‌ها باعث افزایش تحمل گیاه به تنش موجود خواهند شد. بر این اساس هدف از این پژوهش بررسی تأثیر هیومیک اسید و نانوکلات آهن بر بهبود اثرهای منفی ناشی از تنش خشکی با توجه به صفات گلکز، فروکتوز، ساکارز، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاه سیاه‌دانه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

## طرح آزمایشی و تیمارها

این آزمایش به‌صورت اسپلینت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. کرت‌های اصلی شامل تیمارهای تنش خشکی در سه سطح شامل آبیاری ۱۰۰٪ (W1)، آبیاری ۷۵٪ (W2) و آبیاری ۵۰٪ (W3) آب قابل دسترس گیاه بود که به‌وسیله دستگاه TDR مدل ۱۵۰ ساخت کمپانی آمریکا از نوع spectrum اندازه‌گیری انجام شد و کرت‌های فرعی شامل هیومیک اسید (تولیدی شرکت داتیس با میزان ۱۵٪ عصاره هیومیک، ۱۳٪ هیومیک اسید و ۴۴٪ مواد آلی ارگانیک) در سه سطح صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کرت فرعی فرعی شامل نانو کلات آهن (تولیدی شرکت گلباران سبز با ۹٪ آهن) در سه سطح صفر، ۱ و ۲ گرم در لیتر بود. هیومیک اسید در دو مرحله ساقه‌دهی و شروع گلدهی به‌صورت محلول‌پاشی برگ‌ی و محلول نانو کلات آهن در دو مرحله ساقه‌دهی و شروع گلدهی استفاده شد. در ابتدا زمین آزمایش در زمستان سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ با گاوآهن شخم عمیق زده شد. در اول اسفندماه هر دو سال با عملیات دیسک‌زنی و کولتیواتورزنی زمین آزمایش برای کاشت آماده

یادداشت گردید. گیاهان سبز شده در ۴ تا ۶ برگی تنک شدند. محلول پاشی اسید هیومیک و نانوکلات آهن طی دو مرحله رشد (مرحله ساقه‌دهی و شروع گلدهی) انجام شد. بدلیل دارویی بودن گیاه سیاه‌دانه و احتمال اثر بر روی ترکیب‌های سیاه‌دانه هیچ علف‌کشی استفاده نشد و وجین علف‌های هرز با دست انجام شد. به‌نحوی که تا استقرار کامل گیاه در مرحله ۶ برگی آبیاری همه کرت‌ها بدون کاربرد تیمارهای تنش انجام شد. برخی مشخصات آب و هوایی منطقه مورد آزمایش در جدول ۱ و ویژگیهای خاک در جدول ۲ آورده شده است.

گردید. سپس توسط فاروئر پشته‌هایی به عرض ۳۰ سانتی‌متر ایجاد و زمین به صورت جوی و پشته آماده شد. هر بلوک شامل ۲۷ کرت با فاصله یک متر در نظر گرفته شد و هر کرت شامل ۶ خط کشت به طول ۵ متر با فاصله ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله بلوک‌ها از یکدیگر ۱ متر بود. پس از آماده‌سازی زمین، بذر سیاه‌دانه به‌صورت دستی در تاریخ ۲۵ اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ کشت گردید. تا مرحله ۶ برگی آبیاری همه کرت‌ها بدون کاربرد تیمارهای تنش انجام شد و حجم آب استفاده شده

جدول ۱- برخی مشخصات آب و هوایی اقلید در فصل زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۸

سال زراعی	ماه‌های سال	میانگین دمای ماهیانه (درجه سانتی‌گراد)	میانگین رطوبت ماهیانه (%)	بارش ماهیانه (میلی‌متر)
۱۳۹۸-۱۳۹۷	فروردین	۱۲/۴	۳۷	۱۱/۳
	اردیبهشت	۱۳/۳	۴۶	۱۱/۲
	خرداد	۲۱/۴	۲۸	۴/۲
	تیر	۲۴	۱۷	۰
	مرداد	۲۴	۱۸	۰
۱۳۹۹-۱۳۹۸	شهریور	۲۱/۸	۲۱	۰
	فروردین	۱۰/۷	۴۲	۲۴۲/۵
	اردیبهشت	۱۴/۸	۳۴	۸/۹
	خرداد	۲۱	۳۰	۴/۲
	تیر	۲۶/۲	۲۱	۰
شهریور	مرداد	۲۴	۲۲	۰
	شهریور	۲۲	۲۰	۰

منبع: اداره هواشناسی اقلید

جدول ۲- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق خاک (cm)	هدایت الکتریکی (ds.m <sup>-1</sup> )	pH	کربن آلی (%)	نیتروژن (%)	پتاسیم (mg. k <sup>-1</sup> )	فسفر (mg. k <sup>-1</sup> )
۰-۳۰	۰/۵۰۴	۷/۷۲	۰/۵	۰/۰۵	۴۲۰	۷
Sand%	Silt%	Clay%	Cu (mg.k <sup>-1</sup> )	Db (g.cm <sup>-3</sup> )	Fe (mg. k <sup>-1</sup> )	Zn (mg. k <sup>-1</sup> )
۴۴	۳۴	۲۲	۰/۰۹۵	۱/۴۷	۳/۹۴	۰/۶۹
						۷/۹

### نحوه اعمال تیمار تنش خشکی

برای اندازه‌گیری رطوبت ظرفیت زراعی (FC) و نقطه پژمردگی (PWP) از روش مزرعه‌ای و صفحات تحت فشار (آزمایشگاهی) استفاده گردید. از این رو یک نمونه خاک مرکب برای اندازه‌گیری رطوبت مزرعه‌ای و تعیین منحنی رطوبتی خاک به آزمایشگاه فیزیک خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب ارسال شد. با داشتن FC و PWP و کم کردن آنها از یکدیگر میزان آب قابل استفاده (AW) خاک مشخص گردید و بعد از طریق فرمول زیر میزان آب خالص محاسبه گردید.

$$D = (FC - Mt) \times bd \times d / 100$$

D = عمق آب آبیاری به میلی‌متر، FC = رطوبت ظرفیت زراعی، MT = درصد رطوبت وزنی خاک قبل از آبیاری، d = عمق ریشه به میلی‌متر، bd = جرم مخصوص ظاهری گرم بر سانتی‌متر مکعب  
با توجه به اعمال فاکتور آبیاری در سطوح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) میزان درصد رطوبت حجمی و رطوبت خاک با دستگاه رطوبت‌سنج دستگاه اندازه‌گیری شد و وقتی رطوبت حجمی خاک به ترتیب در سطح ۵۰٪ آب قابل استفاده رطوبت حجمی به عدد ۶/۷۵٪ و سطح ۷۵٪ آب قابل دسترس رطوبت حجمی به عدد ۱۰/۱۲٪ و در سطح ۱۰۰٪ آب قابل استفاده درصد رطوبت حجمی به عدد ۱۳/۵٪ رسید اقدام به آبیاری شد.

### اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز از روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۸۱ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۶/۶، ۲۰ میکرولیتر پروتئین محلول نمونه و ۹۰ میکرولیتر گوئیکول ۱٪ به‌عنوان الکترون‌دهنده مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش در کووت ریخته شد و قبل از

اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳٪ به‌عنوان پذیرنده الکترون به مخلوط واکنش اضافه شد و مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

### اندازه‌گیری پراکسیداز

سنجش فعالیت این آنزیم به روش Mac-Adam و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۸۱ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۶/۶، ۲۰ میکرولیتر پروتئین محلول نمونه و ۹۰ میکرولیتر گوئیکول ۱٪ به‌عنوان الکترون دهنده مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش در کووت ریخته شد و قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳٪ به‌عنوان پذیرنده الکترون به مخلوط واکنش اضافه شد و مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل uv 1900 شیمادزو) اندازه‌گیری گردید. تغییرات آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان می‌شود و با شاهد که همان مخلوط واکنش قبل از اضافه کردن پراکسید هیدروژن است، مقایسه می‌شود.

### اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از احیاء نوری نیتروبلوترازولیوم که اساس اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم است، اندازه‌گیری شد. براساس این روش، ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیت ۷/۸) متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریپوفلاوین ۲۰ میکرومولار، EDTA ۱/ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی واکنش تهیه گردید و بعد نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در مقابل نور ۵۰۰۰ لوکس قرار داده شد. بی‌درنگ بعد از قطع نور، جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد (Giannopolities &

(Ries, 1977).

دانکن انجام شد و نمودارها با نرم افزار اکسل ترسیم گردید.

## نتایج

### محتوای آنزیم کاتالاز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرهای آبیاری، هیومیک اسید و کلات آهن به ترتیب در سطح ۱، ۵ و ۱ درصد احتمال آماری معنی دار بر محتوای آنزیم کاتالاز داشتند (جدول ۳). در رابطه با اثرهای متقابل دوگانه نیز مشخص شد که اثر آبیاری × هیومیک اسید و آبیاری × نانوکلات آهن معنی داری در سطح ۱٪ را بر محتوای آنزیم کاتالاز نشان دادند. بر همین اساس اثر متقابل سه گانه آبیاری × هیومیک اسید × نانو کلات آهن نیز در سطح ۵٪ بر این صفت معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه محتوای آنزیم کاتالاز نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بیشترین میانگین (۴/۸۴ Unit/ming fw) با عدم کاربرد نانو کلات آهن و هیومیک اسید و کمترین میانگین (۱/۸۴ Unit/ming fw) با کاربرد ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید در شرایط ۱۰۰٪ آب قابل دسترس بدست آمد (جدول ۴).

### محتوای آنزیم پراکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرهای آبیاری، هیومیک اسید و کلات آهن به ترتیب در سطح ۱، ۵ و ۱ درصد احتمال آماری معنی دار بر محتوای آنزیم پراکسیداز داشتند (جدول ۳). در رابطه با اثرهای متقابل دوگانه نیز مشخص شد که اثر آبیاری × هیومیک اسید و همچنین هیومیک اسید × نانو کلات آهن معنی داری در سطح ۱٪ را بر محتوای آنزیم پراکسیداز نشان دادند (جدول ۳). عدم کاربرد هیومیک اسید و نانوکلات آهن در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۲/۶۱ Unit/mg pro) محتوای آنزیم پراکسیداز را نشان داد. همچنین کاربرد ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و ۵۰۰ میلی گرم در

### اندازه گیری پرولین

برای تعیین میزان غلظت پرولین یک میلی لیتر از عصاره الکلی با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق گردید و بعد ۵ میلی لیتر معرف نین هیدرین (C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) به آن اضافه شد. بعد از آن ۵ میلی لیتر اسید استیک کلاسیال به آن افزوده و پس از به هم زدن، به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از بیرون آوردن از حمام آب جوش و خنک شدن آنها، ۱۰ میلی لیتر بنزن به هر یک از نمونه ها افزوده و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد مرحله بنزن شود. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند، استانداردهایی از پرولین (صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی لیتر) تهیه و در نهایت میزان جذب محلول های استاندارد و نمونه ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردید (Bates et al., 1973).

### اندازه گیری قندها

برای تعیین کل میزان قندهای محلول، ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره تهیه شده یا استانداردها را برداشته و به آن ۳ میلی لیتر معرف آنترون اضافه می شود، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده و پس از خنک شدن نمونه ها، جذب آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت می گردد. برای رسم منحنی استاندارد از گلوکز خالص استفاده می شود. غلظت های ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی گرم در لیتر تهیه و همانند نمونه های اصلی عملیات ممکن روی آنها انجام می گردد (McCready et al., 1950).

### تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین ها در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار چند دامنه ای

آب قابل دسترس (۵/۷۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) با کاربرد ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید بدست آمد (جدول ۴).

#### محتوای گلوکز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرهای آبیاری و کلات آهن در سطح ۱٪ احتمال آماری بر محتوای گلوکز معنی دار بودند (جدول ۳). در رابطه با اثرهای متقابل نیز مشخص شد که تمام اثرهای متقابل دوگانه و اثر سه جانبه آبیاری × هیومیک اسید × نانوکلات آهن معنی داری در سطح ۱٪ را بر محتوای گلوکز نشان دادند (جدول ۳). مقایسه محتوای گلوکز در پاسخ به کاربرد آبیاری × هیومیک اسید × نانوکلات آهن نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۵۸/۲۶ میلی گرم بر گرم) با کاربرد ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و کمترین میانگین در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس (۲۶/۶۶ میلی گرم بر گرم) با عدم کاربرد نانو کلات آهن و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید بدست آمد (جدول ۴).

#### محتوای فروکتوز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرهای ساده، متقابل دوگانه و سه گانه در سطح ۱٪ احتمال آماری بر محتوای فروکتوز معنی دار بودند (جدول ۳). مقایسه محتوای فروکتوز در پاسخ به کاربرد آبیاری × هیومیک اسید × نانوکلات آهن نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۳۶/۰۹ میلی گرم بر گرم) با کاربرد ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و کمترین میانگین در شرایط ۱۰۰٪ آب قابل دسترس (۲۱/۲۸ میلی گرم بر گرم) با عدم کاربرد نانو کلات آهن و هیومیک اسید بدست آمد (جدول ۴).

لیتر هیومیک اسید در شرایط ۱۰۰٪ آب قابل دسترس کمترین میانگین (۰/۸۱ Unit/mg pro) این شاخص را نشان داد (جدول ۴).

#### محتوای آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرهای آبیاری، هیومیک اسید و کلات آهن در سطح ۱٪ بر محتوای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی دار بود (جدول ۳). در رابطه با اثرهای متقابل دوگانه نیز مشخص شد که اثر آبیاری × هیومیک اسید و آبیاری × نانوکلات آهن معنی داری در سطح ۱٪ را بر محتوای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان دادند (جدول ۳). بر همین اساس اثر متقابل سه گانه آبیاری × هیومیک اسید × نانوکلات آهن نیز در سطح ۵٪ بر این صفت معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین محتوای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پاسخ به برهم کنش آبیاری، هیومیک اسید و نانوکلات آهن نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۳/۶۱ Unit/mg fw) با عدم کاربرد هیومیک اسید و نانوکلات آهن، و کمترین میانگین در شرایط ۱۰۰٪ در آب قابل دسترس (Unit/mg fw) (۱/۶۴) با کاربرد ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید بدست آمد (جدول ۴).

#### محتوای پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای ساده در سطح ۱٪ احتمال آماری بر محتوای پرولین معنی دار بودند. تمام اثرهای متقابل دوگانه و سه گانه بر این صفت معنی دار بودند (جدول ۳). غلظت پرولین طی تنش خشکی در تمامی گیاهان تحت تنش برای تنظیم فشار اسمزی درون گیاه افزایش پیدا می کند. مقایسه محتوای پرولین در پاسخ به کاربرد آبیاری × هیومیک اسید × نانوکلات آهن نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۱۶/۸۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) با عدم کاربرد هیومیک اسید و نانوکلات آهن و کمترین میانگین در شرایط ۱۰۰٪

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر هیومیک اسید و نانوکلات آهن بر صفات مورد بررسی گیاه دارویی سیاه‌دانه تحت تنش خشکی

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییر
ساکارز	فروکتوز	گلوکز	پرولین	سوپر اکسید دیسموتاز	پراکسیداز	کاتالاز		
۲/۴۸۳n.s	/۲۰۹n.s	۱۷/۸۹۳ n.s	۲/۱۷**	/۵۰۵**	۱/۴۵**	/۰۰۰n.s	۱	سال
/۷۷۱n.s	۱/۲۹۰	۲۶/۷۷۶	/۰۱۵	/۲۲۹	/۴۰۷	/۰۱۵	۴	سال × بلوک
۲۷۷/۱۷۲**	۱۲۸۹/۴۵**	۲۲۶۰/۷۴۷**	۹۸۶/۷۳**	۱۹/۶۷**	۸/۷۱**	۴۳/۵۸**	۲	آبیاری (A)
۱/۳۹۵n.s	/۴۷۷*	۱۴/۸۱۶n.s	/۵۱۸*	/۰۲۰n.s	/۰۰۳n.s	/۰۰۱n.s	۲	فاکتور a × سال
/۶۳۳n.s	/۰۳۶n.s	۱۰/۵۴۴n.s	/۱۳۹n.s	/۰۰۹n.s	/۰۰۳n.s	/۰۰۱n.s	۸	بلوک a × سال
۹۱/۰۲۷**	۲۱۳/۸۸**	۲۸/۶۸۱*	۷۹/۰۲**	۷/۹۷**	۸/۴۴۶**	۱۴/۵۶**	۲	هیومیک اسید (B)
۱/۱۳۶n.s	/۳۱۲*	۵/۸۵۰ n.s	/۳۵۱n.s	/۰۱۱ n.s	/۰۲۰ n.s	/۰۱۱n.s	۲	B × سال
۱/۵۶۵n.s	۳۶/۹۰**	۴۸۳/۹۰**	۳/۴۱۱**	/۸۴۷**	/۷۶۳**	۱/۵۴**	۲	نانو کلات آهن (C)
/۳۶۴n.s	/۱۱۸n.s	۹/۷۴۱n.s	/۰۱۸n.s	/۰۰۱n.s	/۰۰۰n.s	/۰۰۷n.s	۲	C × سال
/۸۶۱n.s	۳/۱۹۰**	۲۲۹/۸۰۵**	/۸۶۱**	/۲۷۳**	/۱۶۹**	/۰۹۷**	۴	اثر متقابل B×A
/۹۹۶n.s	/۱۶۰n.s	۱۱/۵۲۳n.s	/۵۳۷n.s	/۰۲۵n.s	/۰۰۸n.s	/۰۰۵n.s	۴	اثر متقابل B×A در سال
/۹۱۷n.s	/۳۷۴**	۱۵۶/۲۴۵**	/۴۷۹*	/۰۰۶**	/۰۰۴**	/۱۱۳**	۴	اثر متقابل C×A
۱/۶۹۹n.s	/۲۳۳n.s	۹/۹۴۲n.s	۱/۱۲**	/۰۰۴n.s	/۰۰۰n.s	/۰۱۱n.s	۴	اثر متقابل C×A در سال
۱/۷۹۵n.s	۳/۹۴۸**	۲۴۹/۴۶**	/۵۳۴*	/۰۳۹**	/۰۱۹**	/۰۱۳n.s	۴	اثر متقابل C×B
۳/۹۴۸n.s	/۱۲۶n.s	۱۴/۵۵۶n.s	۱/۲۰۳**	/۰۱۱ n.s	/۰۰۴ n.s	/۰۰۳n.s	۴	اثر متقابل C×B در سال
۲/۱۵۷*	۱/۴۶۷**	۱۸۶/۲۱۲**	۱/۰۳۵**	/۰۶۷**	/۰۳۵**	/۰۱۳**	۸	اثر متقابل C×B×A
/۶۰۵n.s	/۱۷۷n.s	۸/۸۱۷n.s	/۶۵۲*	/۰۳۴n.s	/۰۰۱n.s	/۰۰۴n.s	۸	اثر متقابل C×B×A در سال
۱/۱۹۱	/۱۲۹	۹/۲۳۷	/۱۶۶	/۰۱۶	/۰۰۴	/۰۰۹	۴۸	خطا
۱۲/۳۳۵	۱/۲۸۵	۶/۶۹۹	۳/۷۶	۵/۲۱	۴/۱۹	۲/۹۹		ضریب تغییرات (%)

ns, \* و \*\*: به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۴- نتایج مقایسه اثرهای میانگین متقابل آبیاری و اثر هیومیک اسید و نانوکلات آهن در صفات مورد بررسی

محتوای ساکارز (میلی گرم بر گرم)	محتوای فروکتوز (میلی گرم بر گرم)	محتوای گلوکز (میلی گرم بر گرم)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	سوپر اکسید دیسموتاز (Unit/ming fw)	پراکسیداز (Unit/mg pro)	کاتالاز (Unit/ming fw)	نانو کلات آهن (گرم در لیتر)	هیومیک اسید (میلی گرم در لیتر)	سطح آبیاری (آب قابل دسترس)
۹/۸۰cd	۳۱/۰۸f	۵۲/۶۱d	۱۶/۸۵a	۳/۶۱ a	۲/۶۱ a	۴/۸۴ a	۰		
۹/۷۸acd	۳۱/۳۳f	۵۲/۶۶d	۱۵/۹۲b	۳/۵۹ b	۲/۶۱ b	۴/۳۸ b	۱	۰	
۸/۴۵ef	۳۲/۱۲e	۵۳/۳۵cd	۱۶/۲۱c	۳/۵۳ b	۲/۴۲ c	۴/۶۴ c	۲		
۱۰/۸۹abc	۳۲/۶۲d	۵۴/۵۶bcd	۱۵/۵۲c	۳/۵۹ b	۲/۲۱ d	۴/۴ d	۰		
۱۱/۱۲ab	۳۲/۲۲de	۵۴/۷۰bcd	۱۵/۱۵d	۳/۳۲ d	۲/۰۶ fg	۴/۳۱ e	۱	۲۵۰	۵۰
۱۱/۹۲a	۳۴/۳۶bc	۵۶/۹۹ab	۱۵/۴۳c	۲/۹۱ e	۱/۸۴ k	۴/۱۵ f	۲		
۱۱/۸۹ab	۳۴/۱۳c	۲۶/۶۶m	۱۴/۲۳e	۲/۷۸ f	۱/۵۹ jk	۳/۷ fg	۰		
۱۱/۹۴a	۳۴/۶۵b	۵۶/۷۰abc	۱۳/۸۷ e	۲/۶۲ g	۱/۶۲ m	۳/۷۹ f	۱	۵۰۰	
۱۲/۱۱a	۳۶/۰۹a	۵۸/۲۶a	۱۳/۲۸ f	۲/۶۳ h	۱/۴۶ ef	۳/۵ h	۲		
۵/۳۵jsk	۲۴/۴۸m	۴۴/۴۹efg	۱۲/۲۷ g	۲/۸۶ f	۱/۸۴ ef	۳/۸ f	۰		
۴/۶۹k	۲۵/۲۴l	۴۵/۴۴ef	۱۲/۱۱ g	۲/۷ g	۱/۸۸ gh	۳/۶ g	۱	۰	
۵/۵۸jk	۲۶/۱۲k	۴۴/۱۵fg	۱۱/۵۲ h	۲/۵۹ h	۱/۷۴ kl	۳/۴۹ h	۲		۷۵
۵/۹۶ij	۲۶/۵۱k	۴۴/۸۶efg	۱۰/۹۸i	۲/۳۶ i	۱/۵۸ lm	۳/۳۴ i	۰		
۶/۴۸ij	۲۷/۰۴j	۴۵/۰۳efg	۱۰/۵۷ij	۲/۲۸ kj	۱/۵۴ n	۲/۹۷	۱	۲۵۰	
۷/۰۷ghi	۲۷/۵۶i	۴۵/۵۷ef	۱۰/۲۵kj	۲/۲۸ l	۱/۴۸ o	۲/۸۳ k	۲		



ادامه جدول ۴ - ...

محتوای ساکارز (میلی گرم بر گرم)	محتوای فروکتوز (میلی گرم بر گرم)	محتوای گلوکز (میلی گرم بر گرم)	پرویین (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	سوپر اکسید دیسموتاز (Unit/ming fw)	پراکسیداز (Unit/mg pro)	کاتالاز (Unit/ming fw)	نانو کلات آهن (گرم در لیتر)	هیومیک اسید (میلی گرم در لیتر)	سطح آبیاری (آب قابل دسترس)
۶/۸۹ghi	۲۸/۰۸h	۴۴/۲۷efg	۹/۸۹ kl	۱/۹ m	۱/۳۲ p	۲/۷۹ l	۰		
۷/۶۸fgh	۲۸/۳۸h	۴۵/۵۷ef	۹/۴۹ l	۱/۸۸ p	۱/۲ rs	۲/۵۱ m	۱	۵۰۰	
۷/۹۳fg	۳۰/۶۶g	۴۷/۷۰e	۸/۹۵ m	۱/۶۵ r	/۹۴ ij	۲/۳ i	۲		
۷/۷۹fg	۲۱/۲۸q	۳۵/۸۷kl	۸/۲۱ n	۲/۳۴ kj	۱/۷۲ ih	۳/۱۲ i	۰		
۷/۶۹fgh	۲۱/۰۵p	۳۷/۲۳i-l	۷/۹۹ n	۲/۳۵ ij	۱/۷۳mn	۳/۰۱ k	۱	۰	
۸/۰۱fg	۲۱/۴۸o	۳۶/۵۹jkl	۷/۳۳ o	۲/۲ kl	۱/۵۲ op	۲/۷۴ k	۲		
۹/۸۲cd	۲۴/۳۵m	۳۴/۲۶l	۶/۷۴ p	۲/۱۲ m	۱/۲۸ p	۲/۵۴ l	۰		
۹/۳۰de	۲۳/۱۳n	۳۸/۹۳h-k	۶/۳۱ pq	۱/۹۱ o	۱/۲۸ rs	۲/۴۹ l	۱	۲۵۰	۱۰۰
۸/۸۰def	۲۴/۲۷m	۴۰/۴۲hi	۶/۰۶ qr	۱/۶۷ q	۱/۰۳ q	۲/۲۲ m	۲		
۹/۸۳cd	۲۴/۲۲m	۳۹/۹۷hij	۵/۱ r	۱/۹۱ n	۱/۱۱ s	۲/۲۲ m	۰		
۱۰/۶۶bc	۲۵/۶۱l	۴۱/۸۶gh	۶/۱۱ rs	۱/۷۶ qr	/۹۱ t	۲/۱ n	۱	۵۰۰	
۱۱/۳۸ab	۲۷/۱۶ij	۴۴/۹۰efg	۵/۷۲ s	۱/۶۴ s	/۸۱ u	۱/۸۴	۲		

در هر ستون، میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵٪ آزمون LSD با یکدیگر اختلاف ندارند.

## محتوای ساکارز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که اثرهای آبیاری و هیومیک اسید در سطح ۱٪ احتمال آماری بر محتوای ساکارز معنی دار بودند و از میان اثرهای متقابل تنها اثر متقابل سه گانه آبیاری × هیومیک اسید × نانوکلات آهن در سطح ۵٪ معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه محتوای ساکارز نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۱۲/۱۱ میلی گرم بر گرم) با کاربرد ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین میانگین در شرایط ۷۵٪ آب قابل دسترس (۴/۶۹ میلی گرم بر گرم) با عدم کاربرد هیومیک اسید و ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن بدست آمد (جدول ۴).

## بحث

در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که اثرهای آبیاری، هیومیک اسید و کلات آهن و اثرهای متقابل آنها با درصدهای احتمال آماری متفاوت بر تمامی صفات مورد اندازه گیری معنی دار بودند. نتایج تحقیقات بر روی ذرت (Kellos *et al.*, 2008) و بر روی آفتابگردان (Manivannan *et al.*, 2008) نشان دادند که ماهیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به طور معنی داری تحت تنش خشکی افزایش می یابد. مطالعه Petridis و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده است که تحت تنش خشکی، فعالیت آنتی اکسیدانی در چهار رقم زیتون افزایش یافته و البته این افزایش در همه رقم های مورد مطالعه، یکسان نبوده است. Soleimani و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که با افزایش سطح تنش تا حد مشخصی، بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز نیز افزایش می یابد (Dorjahangir *et al.*, 2012). محتوای پرولین در برگ های بسیاری از گیاهان به وسیله تنش ها از جمله خشکی افزایش می یابد. بنابراین به نظر می رسد که تجمع پرولین آزاد یک پاسخ متداول به تنش در گیاهان عالی باشد. البته اسیدهای آمینه دیگری نیز تحت تنش های خشکی و شوری انباشته می شوند اما

درجه تغییرات آنها با تجمع پرولین که ظرف مدت کوتاهی پس از اعمال تنش به سطوح خیلی بالا می رسد قابل مقایسه نیست (Tavakoli *et al.*, 2016). تجمع پرولین یکی از شاخص های مهم تحمل به تنش خشکی در گیاهان عالی می باشد (Bartels & Sunkars, 2004). تحت تنش خشکی، تجمع پرولین به ایجاد تنظیم اسمزی در سلول های گیاه که تحت کمبود آب قرار دارند، کمک می کند (Chaves *et al.*, 2002). همچنین Phutela و همکاران (۲۰۰۰) نیز تأکید کردند که تجمع پرولین در بافت گیاهان تنش دیده به علت افزایش میزان به وسیله پرولین-۵-کربوکسیلاز سنتتاز و کاهش میزان تجزیه آن به وسیله آنزیم پرولین اکسیداز است. در شرایط تنش خشکی آب قابل دسترس گیاه کاهش می یابد و برای حفظ محتوای آب درونی روزنه های برگ بسته می شود که این امر منجر به کاهش جذب و تثبیت CO<sub>2</sub>، بازداری از فعالیت آنزیم های فتوسنتزی و تغییر در متابولیسم قندها می گردد (Flexas *et al.*, 2004). با وجود کاهش تثبیت کربن در برگ های تحت تنش خشکی، مقدار زیادی کربوهیدرات محلول در آب مانند گلوکز، فروکتوز، ساکارز استاکیوز، مانیتول و پینیتول تجمع می یابند. البته نوع کربوهیدرات های محلول در بین گونه ها متغیر می باشد (Valliyodan & Nguyen, 2006). کربوهیدرات های محلول و سایر املاح مانند پرولین به عنوان اسمولیت ها برای نگهداری تورژسانس سلول برگ، حفاظت غشاء و جلوگیری از دنا توره شدن پروتئین نقش دارند (Bartels & Sunkars, 2004). کربوهیدرات های محلول (ساکارز، فروکتوز و گلوکز) نقش اصلی در متابولیسم گیاه در سطح سلولی و گیاه کامل ایفاء می کنند. آنها علاوه بر منبع انرژی، در واکنش به تنش های غیرزنده شرکت می کنند و به عنوان پیام رسان های اولیه سیگنال هایی را تنظیم می کنند که در کنترل بیان ژن های مختلف درگیر در متابولیک نقش دارند (Price *et al.*, 2004). بررسی های فیزیولوژیکی نشان داده است که قندهایی از قبیل رافینوز گروه

### سیاسگزاری

این مقاله بخشی از رساله دکتری نویسنده اول است که به بخش زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج ارائه شده است. از همکاران ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اقلید برای همکاری در اجرای این آزمایش تشکر و قدردانی می‌گردد.

### منابع مورد استفاده

- Abedi, T. and Pakniyat, H., 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46: 27-34.
- Ayobizadeh, N., Haei, Gh., Aminidehaghi, M., Masoud Sinki, J. and Rezvani, Sh., 2019. Effect of foliar application of iron nano-chelate and folic acid on seed yield and some physiological traits of sesame cultivars under drought tension conditions. *Crop Physiology Journal*, 10(40): 55-74.
- Bartels, D. and Sunkars, R., 2004. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 24: 23-58.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teave, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Chance, B. and Maehly, A., 1995. Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymology*, 2: 764-775.
- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osório, M.L., Carvalho, I., Faria, T. and Pinheiro, C., 2002. How plants cope with water stress in the field? *Photosynthesis and growth*. *Annals of Botany*, 89(7): 907-916.
- Dorjahangir, M., Kashefi, B. and Alipour, Z., 2012. A review of drought stress on growth characteristics and secondary metabolites of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *The 3rd National Conference on Agriculture and Food Sciences*, 3 December.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G. and Sharkey, T.D., 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6: 1-11.
- Giannopolities, C.N. and Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309-314.
- Haji Sharifi, A., 2003. Black Cumin: 658-661. In: Haji Sharifi, A., (Ed.). *Secretes in Medicinal Plants*. Hafez-e-Novin press, Tehran, 960p.

اولیگوساکاریدها، ساکارز، فروکتوز ترهالوز و سوربیتول، قندهای الکلی از قبیل مانیتول، اسیدهای آمینه از قبیل پرولین و آمین‌ها از قبیل گلاستین بتائین و پلی‌آمین‌ها تحت تنش خشکی در گونه‌های گیاهی مختلف تجمع می‌یابند (Rezapor *et al.*, 2011). در پژوهشی کاربرد نانوکود فارمکس و اسید هیومیک باعث افزایش عملکرد و میزان مواد مؤثره سیاهدانه گردید. از این رو به نظر می‌رسد فراهم بودن بیشتر عناصر غذایی برای گیاه در تیمارهای کودی باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی شده است (Piccolo *et al.*, 1993). نتایج پژوهشی در مورد بررسی اثرهای نانوکلات آهن و اسید فولیک بر ارقام کنجد در شرایط تنش خشکی نشان داد که قطع آبیاری در ۵۰٪ گلدهی کمترین عملکرد دانه و عملکرد پروتئین را داشت. بیشترین درصد و عملکرد پروتئین و کلروفیل در گیاهان محلول‌پاشی شده با نانوکلات آهن همراه با اسید فولیک مشاهده شد (Ayobizadeh *et al.*, 2019).

به عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که افزایش تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پرکسیداز دیسموتاز و پرولین شد. میزان فعالیت آنزیم‌ها در تیمارهای تنش خشکی با عدم استفاده از هیومیک اسید نانوکلات آهن بالاتر از شرایط بدون تنش بوده است. در تیمار ۵۰٪ تنش خشکی محتوای تمام اسمولیت‌های محافظت‌کننده در شرایط تنش بالا رفت، زیرا با افزایش تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پرکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، پرولین و قندها شد. در تیمار تنش خشکی ۵۰٪، با کاربرد ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن بالاترین اعداد در صفات گلوکز، فروکتوز و ساکارز بدست آمد. به طور کلی براساس نتایج این آزمایش می‌توان گفت که استفاده از کود هیومیک اسید به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن در راستای کاهش اثرهای تنش بر گیاه سیاهدانه پیشنهاد می‌گردد.

- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161(11): 1189-1202.
- Rezapour, A., Heidari, M., Galavi, M. and Ramrodi, M., 2011. Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grain yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 27(3): 384-396.
- Salman, S.R., Abou-Hussein, S.D., Abdel-Mawgoud, A.M.R. and El-Nemr, M.A., 2005. Fruit yield and quality of watermelon as affected by hybrids and humic acid application. *Journal of Applied Sciences Research*, 1: 51-58.
- Sequera-Mutiozabal, M., Tiburcio, A.F. and Alcázar, R., 2016. Drought Stress Tolerance in Relation to Polyamine Metabolism in Plants: 267-286. In: Hossain, M.A., Wani, S.H., Bhattacharjee, S., Burritt, D.J. and Lam-Son P.T. (Eds.), *Drought Stress Tolerance in Plants (Vol. 1)*, Springer International Publishing, 526p.
- Soleimani, Z., Safipoorafshar, A. and Bahrami, A., 2012. Expression of superoxide dismutase gene in Cumin (*Cuminum Cuminum* L.) under salinity stress. 12th Congress of Iranian Genetics Society, Tehran, 21 May.
- Tavakoli, M., Poustini, K. and Alizadeh, H., 2016. Proline accumulation and related genes in wheat leaves under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18: 707-716.
- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S. and Nardi, S., 2010. Humic substances biological activity at the plant-soil interface. *Plant Signaling and Behavior Journal*, 5(6): 635-643.
- Valliyodan, B. and Nguyen, H.T., 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(2): 189-195.
- Zuo, Y. and Zhang, F., 2011. Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. *Plant and Soil*, 339(1): 83-95.
- Hosseini Boldaji, S.A., Khavari-Nejad, R.A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H. and Saadatmand, S., 2012. Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Acta Physiologia Plantarum*, 34: 1177-1186.
- Kellos, T., Timar, L., Szilagyi, V., Szalai, G., Galiba, G. and Kocsy, G., 2008. Effect of abiotic stress on antioxidants in maize. *Plant Biology*, 10(5): 563-572.
- Mac-Adam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E., 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology*, 99: 872-878.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2008. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. *Comptes Rendus Biologies*, 331(6): 418-425.
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H.S., 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9): 1156-1158.
- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. and Giannakoula, A., 2012. Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60: 1-11.
- Phutela, A., Jain, V., Dhawan, K. and Nainawatee, H.S., 2000. Proline metabolism under water stress in the leaves and roots of *Brassica juncea* cutltivars differing in drought tolerance. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 9: 35-39.
- Piccolo, A., Celanoand, G. and Pietramellara, G., 1993. Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*Lactuca sativa* and *Lycopersicon esculentum*). *Biology and Fertility of Soil*, 16: 11-15.
- Price, J., Laxmi, A.S., Martin, S.K. and Jang, J.C., 2004. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 16(8): 2128-2150.

## Effects of humic acid and iron nanochelate on osmolytes content of black cumin (*Nigella sativa* L.) under drought stress conditions

A. Hayati<sup>1</sup>, M.M. Rahimi<sup>2\*</sup>, A. Kelidari<sup>3</sup> and S.M. Hosseini<sup>4</sup>

1- Ph.D. student, Department of Agriculture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

2\*- Corresponding Author, Department of Agriculture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

E-mail: m.rahimi1351@yahoo.com

3- Department of Agriculture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

4- Fars Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran

Received: June 2021

Revised: July 2021

Accepted: October 2021

### Abstract

Black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds are used in the traditional medicine in many countries to prevent and treat many disorders and diseases including cough, asthma, nasal congestion, headache, toothache, intestinal worms, menstrual disorders, gastrointestinal diseases, and impotence. To study the effects of humic acid and iron nanochelate on the content of osmotic protective osmolites including glucose, fructose, sucrose, proline, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase of medicinal plant black cumin under the drought stress conditions, an experiment was conducted as a split factorial based on the randomized complete block design with three treatments in three replications at the Agricultural and Natural Resources Research Station of Eqlid city during two crop years of 2018 and 2019. The main plot consisted of three levels of irrigation (50, 75, and 100% of available water) and sub-plots included humic acid (0, 250, and 500 mg l<sup>-1</sup>) and iron nanochelate (0, 1, and 2 g l<sup>-1</sup>). The results showed that the effects of irrigation, humic acid, and iron chelate treatments on the catalase, superoxide dismutase, glucose, and peroxidase content, irrigation treatments on the proline content, and irrigation and humic acid treatments on the sucrose and fructose content were significant. The content of all protective osmolites increased in the 50% drought stress treatment. The highest content of glucose, fructose, and sucrose was obtained in the 50% drought stress, 500 mg l<sup>-1</sup> humic acid, and 2 g l<sup>-1</sup> iron nanochelate treatment. Overall, based on the results of this experiment, the application of humic acid fertilizer (500 mg l<sup>-1</sup>) and iron nanochelate (2 g l<sup>-1</sup>) could be recommended to reduce the effects of drought stress on black cumin.

**Keywords:** Catalase, peroxidase, proline, humic acid, fructose.