

بررسی تأثیر کود زیستی ازت و کود اوره بر برخی صفات فیزیولوژی، فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)

فائزه هادی نژاد^۱، اعظم سلیمی*^۲، مریم چاوشی^۳

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از کودهای زیستی به صورت جایگزین بخشی از کودهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. از طرفی کودهای شیمیایی سبب افزایش عملکرد محصولات کشاورزی می‌شوند. جایگزین نمودن کود زیستی به جای کود شیمیایی می‌تواند مزایای اقتصادی مناسبی را برای کشاورزان به همراه داشته باشد، که از جمله‌ی آن‌ها، کاهش آلودگی خاک، افزایش حاصلخیزی خاک و بهبود رشد گیاه را می‌توان نام برد. هدف از این پژوهش بررسی کودهای زیستی ازتوباکتر، شیمیایی اوره، تلفیق کود زیستی و شیمیایی با نسبت‌های ۵۰/۵۰ و ۳۰/۷۰ و قارچ تریکودرما در گیاه سیاه‌دانه است که آزمایشی به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه انجام گرفت. طول ساقه و ریشه، وزن تر و خشک ریشه، وزن خشک ساقه، تعداد کپسول، وزن هزار دانه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فیتواسترول در همه‌ی تیمارها افزایش یافته است. کود زیستی باعث افزایش پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز برگ، کلروفیل *b* و فیتواسترول‌ها و تیمار کود تلفیقی باعث افزایش کلروفیل *a* کلروفیل کل، پروتئین برگ و دانه شده است. تیمار تریکودرما باعث افزایش پروتئین برگ شده است. به‌طور کلی به‌کارگیری کودهای زیستی و تلفیقی و فراهم کردن مواد مورد نیاز گیاه باعث افزایش رشد گیاه می‌شود و استفاده از کودهای زیستی در قالب تغذیه‌ی تلفیقی در کاهش مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و آلودگی‌های ناشی از آن مؤثر است و کارایی بهتری را به دنبال خواهد داشت. با توجه به نتایج موجود تیمارهای کود تلفیقی و قارچ تریکودرما بیشترین تأثیر را در پارامترهای اندازه‌گیری شده دارد.

واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر، تریکودرما، سیاه‌دانه، فیتواسترول، کود زیستی،

۱- دانشجوی اسبق کارشناسی ارشد گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول: Salimi@khu.ac.ir)

۳- دانشجوی اسبق دکتری گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

مقدمه

گیاه سیاه‌دانه با نام علمی (*Nigella sativa* L) گیاهی علفی، دولپه و متعلق به تیره‌ی آلانگان (Ranunculaceae) می‌باشد. بذرهاى سیاه‌دانه مصرف خوراکی دارند و حاوی ترکیبات دارویی و متابولیت‌های ثانویه است. از ترکیبات دارویی آن می‌توان به تیموکینون، فیتواسترول، آلكالوئید، چربی و اسانس‌ها اشاره کرد (Kalidasu et al., 2017). کودهای زیستی به مواد حاصل‌خیزکننده‌ای گفته می‌شود که حاوی تعداد کافی از یک یا چندگونه میکروارگانیسم خاکی هستند که عمدتاً از محیط‌زیست جداسازی و در محیط‌های کشت آزمایشگاهی تکثیر و پرورش پیدا می‌کنند. کودهای زیستی با منشأ طبیعی سبب افزایش مواد آلی خاک و به دنبال آن باعث افزایش عملکرد گیاه می‌شود و از طرفی سبب کاهش مصرف کودهای شیمیایی و آلودگی ناشی از آنها خواهند شد (Bhattacharjee & Dey, 2014). کودهای زیستی در گیاه سرخارگل می‌توانند به جای کودهای معدنی نیتروژن و فسفر مورد استفاده قرار گیرند تا ضمن کاهش هزینه‌های ناشی از مصرف این قبیل کودها، از آسیب به محیط زیست به‌ویژه در اثر نیتروژن به شکل نیتراتی جلوگیری به عمل آید (آقاعلیخانی، ۱۳۹۲). تلقیح بذر شنبليله با کود زیستی سینوریزوبیوم و کود زیستی پتابارور منجر به افزایش اکثر صفات رویشی و در نتیجه عملکرد شاخساره شد (منیری، ۱۳۹۶). کودهای زیستی توانسته اثرات مثبت و مناسبی در عملکرد جو (کنعانی ۱۳۹۲)، آفتابگردان (شکوه‌فر ۱۳۹۷)، گندم (مهتدی، ۱۳۹۲ و امیر یوسفی، ۱۳۹۶) داشته باشند. کاهش سمیت در گیاهان خوراکی و دارویی رویکردی است که در جهان و ایران مورد توجه ویژه قرار گرفته است جایگزین کردن کودهای آلی و زیستی به جای کودهای شیمیایی یکی از آرزوهای محققینی است که در زمینه‌ی سالم‌سازی تغذیه‌ی انسان تلاش می‌کنند (Talaei & Gholami, 2014) از این رو، در این پژوهش بذرهاى گیاه گونه *Nigella sativa* L. برای مطالعه‌ی انتخاب و تأثیر کود زیستی ازت و کود شیمیایی اوره بر برخی ترکیبات متابولیک ثانویه از جمله فیتواسترول و نیز خواص آنتی‌اکسیدانی بذرهاى آن انجام می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور کاشت گیاه سیاه‌دانه، بذر گونه‌ی *Nigella sativa* L. از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. پس از آماده‌سازی و آنالیز خاک محل موردنظر، بذرها در مزرعه دانشگاه خوارزمی کرج با مساحت ۲۰۰ مترمربع در طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۰ دقیقه شمالی در اوایل مهرماه ۹۳ کشت شد. آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار کودی شامل کود شیمیایی نیتروژن، کود زیستی ازتوباکتر، کود تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰ (زیستی: شیمیایی) و ۳۰/۷۰ (زیستی: شیمیایی) و همچنین قارچ تریکودرما مطابق جدول زیر در ۳ تکرار انجام شد (Allen et al., 1998; Duke, 1983).

جدول ۱: نوع کودهای مورد استفاده و میزان مصرف

نوع کود	مقدار مورد مصرف	نحوه استفاده	زمان استفاده
کود اوره شیمیایی	۴۰ کیلوگرم در هکتار	سرک	ابتدای کشت
کود کامل شیمیایی	۵۰ کیلوگرم در هکتار	سرک	ابتدای کشت
کود زیستی (ازتوباکتر)	۱۰۰ گرم در هکتار	بذر مال	ابتدای کشت
قارچ تریکودرما (تریانوم)	۲۰ گرم به ازای ۲۰۰ بوته	محلول در آب	پس از مرحله جوانه زنی
کود تلفیقی شیمیایی و زیستی با نسبت‌های (۵۰/۵۰ و ۷۰/۳۰)	هریک به صورت جداگانه مطابق دستوری که در بالا ذکر شد		ابتدای کشت

کود اوره شیمیایی، کود کامل شیمیایی، کود تلفیقی و کود زیستی از ابتدای کشت هم‌زمان با بذر پاشی در مزرعه انجام شد ولی قارچ تریکودرما به پتری دیش‌های حاوی بذر سیاه‌دانه اضافه شد. دوره‌ی رشد گیاه از مهرماه تا اواخر تیرماه ۹۴ به طول انجامید. در ابتدای مهرماه بذر گیاه سیاه‌دانه هم‌زمان با تیمارهای نام‌برده در مزرعه کشت شد. برداشت گیاهان در دو مرحله صورت گرفت. در برداشت اولیه که در آذرماه بود، برگ‌ها به‌منظور سنجش‌های فیزیولوژیکی برداشت شدند. گروه دوم گیاهان به رشد خود ادامه دادند. پس از رشد تا ارتفاع ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌متر، گیاهان وارد فاز سرما شدند و در اسفندماه پس از گذران سرما به رشد ادامه دادند. شروع غنچه‌دهی در اواخر اردیبهشت‌ماه و گلدهی کامل و بستن کپسول‌ها اواخر خرداد و پس‌از آن پر شدن دانه‌ها و رسیدگی فیزیولوژیک در نیمه‌ی تیر اتفاق افتاد و در نهایت رسیدگی کامل و برداشت کپسول‌ها در اواخر تیرماه صورت گرفت. به‌منظور بررسی بهتر تأثیر تیمارهای کودی روی گیاه و نیز اثر آن بر میزان عملکرد گیاه، برداشت کپسول‌ها نیز پس از رسیدگی کامل به‌منظور سنجش‌های دانه در نیمه‌ی تیرماه صورت گرفت.

صفات اندازه‌گیری شده**۱- صفات مورفولوژی**

برای اندازه‌گیری وزن‌تر، ابتدا اندام‌های هوایی از ریشه جدا و وزن‌تر آن‌ها با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی دیجیتال (مدل Sartorius TE313s، آلمان) تعیین شد. به‌منظور محاسبه وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. طول ساقه از یقه تا جوانه‌ی انتهایی و نوک ریشه با خط‌کش برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. اجزای عملکرد شامل تعداد کپسول در بوته، تعداد دانه در کپسول، ارتفاع گیاه، بیوماس و وزن هزار دانه اندازه‌گیری، شمارش و ثبت شدند.

۲- رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئیدها)

۰/۲ گرم بافت تازه‌ی برگ‌ی با استون ۸۰ درصد سائیده شد. محتوای هاون با کاغذ صافی واتمن شماره‌ی یک صاف گردید. این محلول حاوی کلروفیل a, b و کاروتنوئید است ۳ میلی‌لیتر از این محلول در کووت ریخته شد و شدت جذب آن در

طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico آمریکا) خوانده شد. غلظت این رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید و برحسب میلی‌گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردیدند (Lichtenthaler, 1987).

$$\text{Chla (mg ml}^{-1}\text{)} = 12.25 \times A_{663.2} - 2.79 \times A_{646.8}$$

$$\text{Chlb (mg ml}^{-1}\text{)} = 21.51 \times A_{646.8} - 5.1 \times A_{663.2}$$

$$\text{Chl (a+b)} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Car mg ml}^{-1} = (1000 \times A_{470} - 1.8 \times \text{Chla} - 85.52 \times \text{Chlb}) / 198$$

تهیه‌ی عصاره آنزیمی

ریشه و برگ تازه گیاهان پس از توزین، با دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH ۶/۸) به‌صورت هموژن درآمد. پس از همگن‌سازی نمونه‌ها به ویال‌های دو میلی‌لیتری انتقال داده شد و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در سرعت ۱۵۰۰۰ g به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس فاز بالایی جدا شد و این عصاره‌ها برای سنجش‌های آنزیمی نیز مورد استفاده قرار گرفت (Bradford, 1976).

۳- فعالیت آنزیم کاتالاز

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش که شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۶/۸)، ۱۰۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی می‌باشد به عصاره‌ی آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Dhindsa *et al.*, 1981).

۴- استخراج پروتئین

برای تهیه‌ی معرف برادفورد، کوماسی بریلیانت بلو در ۱۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل و سپس ۲۵ میلی‌لیتر اسید اورتو فسفریک ۸۵ درصد غلیظ به آن اضافه شد و در نهایت حجم کل با آب مقطر به ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده و در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. برای سنجش پروتئین برای هر نمونه ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به‌دست‌آمده و ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر را در یک لوله‌ی آزمایش ریخته و ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد به آن اضافه شد. سپس به‌وسیله‌ی اسپکتروفوتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) جذب نمونه در طول موج ۵۹۵ نانومتر در مقابل محلول شاهد اندازه‌گیری شد؛ و مقدار پروتئین

نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد آلبومین گاوی به ازای میلی‌گرم در گرم وزن تر ماده‌ی گیاهی محاسبه گردید (Bradford, 1976).

۵- محتوای ترکیبات فنلی کل برگ گیاه سیاه‌دانه

برای سنجش محتوای فنل کل گیاه سیاه‌دانه ۰/۵ گرم بافت تر برگ با ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ مخلوط شد. ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره حاصل با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین رقیق شده (نسبت ۱ به ۱۰) ترکیب شد. پس از ۵ دقیقه ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷٪ به آن اضافه و پس از ۹۰ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان گردید (Singleton & Rossi, 1965).

۶- ترکیبات فنلی دانه

به منظور انجام سنجش‌های بیوشیمیایی بر روی گیاه سیاه‌دانه کپسول‌های خشک شده جمع‌آوری، آسیاب و برای تهیه عصاره استفاده شد. میزان ۱۰۰ گرم دانه آسیاب شده با متانول ۸۰٪ استخراج شد. محلول خروجی بی‌رنگ داخل روتاری (مدل STRIKE300، ایتالیا) در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تقطیر سپس عصاره در ظرف تیره در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد. از عصاره حاصل در سنجش فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدان دانه استفاده شد. برای سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل دانه از عصاره تهیه شده به روش فوق استفاده و با ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ مخلوط شد. ۳۰۰ میکرو لیتر از عصاره‌ی حاصل با ۱۵۰۰ میکرو لیتر معرف فولین رقیق شده (نسبت ۱ به ۱۰) ترکیب شد. پس از ۵ دقیقه ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷٪ به آن اضافه شد و پس از ۹۰ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان گردید (Singleton & Rossi, 1965).

۷- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به روش DPPH

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت‌های ۰/۴-۱/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره تهیه و به میزان ۲ میلی‌لیتر در ویال ریخته شد؛ سپس به هر یک ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH اضافه و به خوبی مخلوط شد و به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شد. جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) در ۵۱۷ طول موج نانومتر در مقابل بلانک خوانده شد و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Zhu et al., 2011). برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان دانه همین روش با استفاده از عصاره دانه تکرار شد.

$$/I = (\text{Abs of control} - \text{Abs of sample} / \text{Abs of control}) \times 100$$

Abs of control (میزان جذب نوری شاهد)، Abs of sample (میزان جذب نوری عصاره)

۸- سنجش فیتواستروئول کل به روش طیف‌سنج نوری

عصاره‌گیری از ۰/۵ گرم پودر بذر با استفاده از حلال کلروفرم انجام شد و بعد به هر یک ۲ میلی‌لیتر معرف لیبرمن بورشارد اضافه گردید و پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب عصاره‌ها با دستگاه طیف‌سنج نوری (مدل B7890، آمریکا) در طول موج ۶۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. این معرف با استروئول‌ها واکنش می‌دهد و رنگ سبز درخشانی را ایجاد می‌کند. برای تعیین فیتواستروئول کل، از استیگما استروئول به‌عنوان استاندارد استفاده شد و درصد فیتواستروئول کل (وزن خشک) هر یک از نمونه‌های بذر محاسبه شد (Sabir et al., 2003). فیتواستروئول‌های گیاهی در تمام تیمارهای مختلف کود زیستی، تریکودرما، شیمیایی و تلفیقی مطابق آنچه در مواد و روش‌ها بیان شد استخراج و نهایتاً همراه با استانداردها به دستگاه GC تزریق گردید. در این آنالیز انواع استانداردهای استروئول شامل کلسترول، براسیکا استروئول، ارگسترول، ۲۴-متیلن کلسترول، کمپسترول، کمپستانول، استیگما استروئول، دلتا-۷-کمپسترول، دلتا-۵-۲۴ استیگمااستادی انول، کلرسترول، بتاسیتواستروئول، سیتواستانول، دلتا-۵-اوناستروئول، دلتا-۷-استیگمااستنول، دلتا-۷-اوناستروئول، اریترودیول و اوائول مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز آماری

آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۵ تیمار (کود زیستی، شیمیایی، تلفیق کود زیستی و شیمیایی با نسبت‌های ۵۰/۵۰ و ۳۰/۷۰ و قارچ تریکودرما به تنهایی) و سه تکرار در سال در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه خوارزمی کشت شد. برای تجزیه آماری از نرم‌افزارهای Excel و SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

نتایج

پارامترهای رشد

نتایج به‌دست‌آمده از اثر کودهای زیستی، کود شیمیایی و کود تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما نشان داد که طول ساقه و ریشه، وزن خشک ساقه و وزن تر ریشه در تیمارهای مذکور نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۲). نتایج حاصل از تأثیر کودهای مختلف نشان داد که کودهای زیستی و کود تلفیقی در دو سطح باعث افزایش معنی‌دار بیوماس و وزن تر ساقه نسبت به شاهد شده‌اند ولی کودهای شیمیایی و تریکودرما اثر معنی‌داری نداشته است (جدول ۲).

کودهای زیستی، تریکودرما و تلفیقی باعث افزایش معنی داری بر وزن هزار دانه نسبت به شاهد داشته‌اند (جدول ۲). اثر تیمارهای مختلف بر تعداد دانه در کپسول و کپسول در بوته نشان داد که کود زیستی، کود تلفیقی در دو سطح و تریکودرما افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشته‌اند اما کود شیمیایی تأثیر معنی داری نسبت شاهد نداشته است (جدول ۲).

رنگی‌های فتوسنتزی

اثرات کودهای زیستی، شیمیایی، تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما بر محتوای کلروفیل a نشان داد که کود شیمیایی و کود تلفیقی باعث افزایش مقادیر کلروفیل a شده و کود تریکودرما، بر محتوای این رنگی‌ها بی‌اثر بوده است. این در حالی است که کود زیستی سطح آن را کاهش داد. تیمار کود زیستی باعث افزایش محتوای کلروفیل b نسبت به شاهد شده است و کودهای تلفیقی در دو سطح، تریکودرما و کود شیمیایی تأثیر معنی داری بر مقدار کلروفیل b نسبت به شاهد نداشتند. کودهای زیستی، شیمیایی، کود تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما تأثیر معنی داری بر کلروفیل کل نسبت به شاهد نداشته‌اند. کود تلفیقی با نسبت ۳۰/۷۰ باعث افزایش محتوای کاروتنوئید شد کود تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰ بر محتوای کاروتنوئید اثر معنی داری نداشت و سایر کودها باعث کاهش محتوای کاروتنوئید نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۳).

محتوای پروتئین

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف کود بر محتوای پروتئین در برگ نشان داد که کودهای زیستی، تریکودرما، شیمیایی و تلفیقی در دو سطح، همگی افزایش معنی دار پروتئین برگ نسبت به شاهد داشته‌اند (جدول ۳). بررسی محتوای پروتئین دانه نشان داد که اثر کود تلفیقی با نسبت ۳۰/۷۰ افزایش معنی داری در مقدار پروتئین دانه نسبت به شاهد داشته است، این در حالی است که کود شیمیایی کاهش معنی داری در سطح پروتئین دانه نسبت به شاهد نشان داده است. سایر تیمارها اثر معنی داری بر پروتئین دانه نداشته است (جدول ۳).

آنتی‌اکسیدان

اثر کودهای زیستی، کود شیمیایی، کود تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما نشان داد که آنتی‌اکسیدان برگ در همه تیمارهای مذکور نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته است (جدول ۴). مطابق جدول مقایسه‌ی میانگین‌ها نتایج حاصل از بررسی آنتی‌اکسیدان دانه نشان داد که اثر کود شیمیایی، تلفیقی و تریکودرما باعث افزایش معنی دار آنتی‌اکسیدان دانه نسبت به شاهد شدند ولی کود زیستی نسبت به شاهد معنی دار نبوده است (جدول ۴).

ترکیبات فنلی کل

تأثیر تیمارهای مختلف کودهای زیستی، کود شیمیایی، کود تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما باعث کاهش فنل دانه شده است. کودهای زیستی، کود شیمیایی، کود تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰ و تریکودرما باعث کاهش ترکیبات فنلی برگ شده و کود تلفیقی با نسبت ۳۰/۷۰ بر فنل برگ اثر معنی‌داری نداشته است (جدول ۴).

کاتالاز

بررسی اثر کودهای زیستی، کود شیمیایی، کود تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در همه تیمارهای مذکور نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۴).

فیتواستروئول دانه

اثر کودهای زیستی، شیمیایی، تلفیقی و تریکودرما باعث افزایش فیتواستروئول کل در دانه شده است (جدول ۴). مطابق این جدول بتاسیتواستروئول عمده‌ترین ترکیب موجود در فیتواستروئول گیاه سیاه‌دانه می‌باشد. این ترکیب با ۶۲/۲۷ درصد در تیمار شیمیایی و بعد از آن به ترتیب در تیمار تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰، ۸۸ درصد، در تیمار تریکودرما ۵۰/۸۵ درصد، در تیمار کود زیستی ۴۹/۸۹ درصد و کود تلفیقی با نسبت ۷۰/۳۰، ۴۸/۴۷ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. همچنین استیگما استروئول که بعد از بتاسیتواستروئول در ردیف دوم قرار داشت، درصدهای ۲۰/۹۹، ۲۱/۹۸، ۲۰/۷۱، ۲۰/۳۱ و ۱۲/۲۹ به ترتیب مربوط به تیمارهای زیستی، تلفیقی با نسبت ۷۰/۳۰، تریکودرما و تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰ و شیمیایی داشت. کامپسترول نیز با ۱۵/۹۳ درصد با تیمار کود شیمیایی بالاترین عدد را خود اختصاص داد و سایر تیمارها شامل تریکودرما، زیستی، تلفیقی با نسبت ۷۰/۳۰ و ۵۰/۵۰ به ترتیب درصدهای ۱۲/۰۶، ۱۲/۰۶، ۱۳/۴۹، ۱۲/۶۳ داشت. همچنین ۵-اونا استروئول در تیمار تلفیقی با نسبت ۷۰/۳۰ با ۱۱/۶۱ درصد و زیستی با ۱۰/۶۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داشته و تیمار کود شیمیایی با ۰/۵۵ درصد نسبت به شاهد کاهش را نشان داده است. طبق نتایج به‌دست‌آمده تمامی تیمارها شامل کودهای زیستی و شیمیایی، تلفیقی با دو نسبت ۵۰/۵۰ و ۷۰/۳۰ و قارچ تریکودرما در اکثریت فیتواستروئول‌های ذکر شده در جدول (۵) نسبت به شاهد افزایش را نشان دادند و استروئول‌های عمده در گیاه سیاه‌دانه به ترتیب بتا سیتواستروئول، استیگما استروئول، کامپسترول و دلتا ۵-اونا استروئول بودند؛ و نسبت استروئول کل در فیتواستروئول‌های عمده در گیاه سیاه‌دانه در مقایسه با شاهد در تیمارهای ذکر شده با نسبت‌های ۱۹۰۵/۶۹، ۸۳۸/۸۰، ۱۵۶/۶۸۸ و ۶۸۰/۲۴ به ترتیب مربوط به کودهای شیمیایی، تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰، تریکودرما، زیستی، همگی نسبت به تیمار شاهد افزایش داشته‌اند و نسبت استروئول کل در تیمار تلفیقی با نسبت ۷۰/۳۰ تفاوت چندانی نسبت به شاهد نشان نداد. استفاده از کود شیمیایی به‌تنهایی تأثیر بهتری بر درصد و میزان استروئول کل و همچنین بتا سیتواستروئول داشته است که عمده‌ترین ترکیب

موجود در فیتواسترول‌های گیاه سیاه‌دانه است و بعد از آن تیمار تلفیقی با نسبت ۵۰/۵۰ بالاترین تأثیرگذاری را بر میزان فیتواسترول گیاه سیاه‌دانه داشته است.

جدول ۲: مقایسه میانگین تأثیر کودهای زیستی، شیمیایی، تلفیقی و تریکودرما بر پارامترهای رشد سیاه‌دانه

تیمار	طول ساقه	طول ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	بیوماس
شاهد	10±0.0 ^c	5.0±0.0 ^b	0.04±0.0 ^c	0.04±0.005 ^c	1.52±0.1 ^c
شیمیایی	26±2.08 ^b	7.7±0.3 ^a	0.7±0.01 ^b	0.08±0.008 ^c	3.17±0.9 ^{bc}
زیستی	43±3.5 ^a	8.2±0.4 ^a	1.6±0.29 ^a	0.11±0.008 ^{bc}	10.75±0.9 ^b
تلفیقی ۵۰/۵۰	42±5.6 ^a	8.3±0.8 ^a	1.6±0.12 ^a	0.14±0.02 ^a	8.00±0.3 ^b
تلفیقی ۷۰/۳۰	45±2.8 ^a	7.1±0.6 ^a	1.6±0.143 ^a	0.13±0.006 ^{ab}	11.41±0.6 ^a
تریکودرما	31±2.3 ^b	7.5±0.2 ^a	1.5±0.18 ^a	0.09±0.008 ^a	5.01±1.1 ^{bc}
تیمار	وزن هزار دانه	دانه در کپسول	کپسول در بوته	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه
شاهد	1.68±0.0 ^d	31±1.2 ^d	12±1.15 ^c	1.64±1.64 ^c	0.03±0.0 ^d
شیمیایی	1.86±0.1 ^{cd}	45±1.2 ^{cd}	26±0.88 ^{bc}	4.00±4.003 ^{bc}	0.406±0.12 ^c
زیستی	2.22±0.3 ^a	95±1.8 ^a	48±8.50 ^a	11.41±11.41 ^b	0.69±0.03 ^a
تلفیقی ۵۰/۵۰	1.90±0.1 ^{bc}	59±1.4 ^{bc}	37±3.93 ^{ab}	11.87±11.87 ^b	0.69±0.12 ^a
تلفیقی ۷۰/۳۰	2.06±0.3 ^a	91±1.7 ^a	38±2.4 ^{ab}	22.96±2.2 ^a	0.68±0.11 ^a
تریکودرما	1.87±0.1 ^b	84.67±1.3 ^b	42±8.8 ^{ab}	6.77±6.7b ^c	0.5±0.07 ^b

داده‌ها Mean ± SE را نشان می‌دهند، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۳: مقایسه میانگین تأثیر کودهای زیستی، شیمیایی، تلفیقی و تریکودرما بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین برگ و دانه سیاه‌دانه

تیمار	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پروتئین برگ	پروتئین دانه
شاهد	0.36±0.00 ^c	0.21±0 ^b	0.58±0 ^a	0.39±0.00 ^b	0.45±0.00 ^c	0.020±0.00 ^b
شیمیایی	0.61±0.05 ^b	0.19±0.03 ^b	0.69±0.14 ^a	0.32±0.003 ^c	0.61±0.01 ^c	0.003±0.00 ^c
زیستی	0.18±0.01 ^d	1.02±0.43 ^a	1.40±0.23 ^a	0.12±0.004 ^d	0.85±0.00 ^a	0.018±0.00 ^b
تلفیقی ۵۰/۵۰	0.55±0.00 ^b	0.32±0.19 ^b	1.17±0.68 ^a	0.40±0.024 ^b	0.64±0.03 ^b	0.02±0.01 ^a
تلفیقی ۷۰/۳۰	0.81±0.03 ^a	0.28±0.02 ^b	1.01±0.09 ^a	0.52±0.024 ^a	0.67±0.01 ^b	0.020±0.00 ^b
تریکودرما	0.43±0.02 ^c	0.12±0.02 ^b	0.49±0.07 ^a	0.12±0.003 ^d	0.52±0.00 ^c	0.015±0.00 ^b

داده‌ها Mean ± SE را نشان می‌دهند، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۴: مقایسه میانگین تأثیر کودهای زیستی، شیمیایی، تلفیقی و تریکودرما بر آنتی‌اکسیدان، کاتالاز، ترکیبات فنلی

برگ و دانه و فیتواسترول دانه سیاه‌دانه						
تیمار	آنتی‌اکسیدان دانه	آنتی‌اکسیدان برگ	کاتالاز برگ	فیتواسترول دانه	فنل برگ	فنل دانه
شاهد	66.40±2.52 ^c	16.17±0.27 ^e	0.0005±0.001 ^b	0.0018±0.0 ^c	1136±0.1 ^a	69.44±0.16 ^a
شیمیایی	149.22±4.81 ^a	68.67±3.26 ^{bc}	0.0014±0.0003 ^a	0.0072±0.0 ^a	757±0.1 ^{bc}	45.340±1.81 ^{cd}
زیستی	92.45±8.16 ^{bc}	74.21±4.71 ^b	0.0019±0.0003 ^a	0.0071±0.0 ^a	667±0.5 ^c	49.76±4.69 ^{bc}
تلفیقی ۵۰/۵۰	117.20±8.24 ^b	92.02±2.46 ^a	0.0019±0.0003 ^a	0.0057±0.0 ^{ab}	859±0.3 ^{bc}	50.55±2.80 ^{bc}
تلفیقی ۷۰/۳۰	160±9.47 ^a	54.46±6.27 ^d	0.0024±0.0001 ^a	0.0045±0.0 ^b	987±0.1 ^{ab}	55.25±3.67 ^b
تریکودرما	99.15±7.49 ^b	60.33±1.32 ^{cd}	0.009±0.0001 ^a	0.0040±0.0 ^b	842±0.2 ^{bc}	36.90±3.93 ^d

داده‌ها Mean ± SE را نشان می‌دهند، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۵: نتایج حاصل سنجش انواع فیتواسترول دانه تحت تیمارهای مختلف کود زیستی، تریکودرما، شیمیایی و تلفیقی

سیاه‌دانه به روش کروماتوگرافی گازی						
انواع کود انواع استرول	واحد	تریکودرما	شاهد	زیستی	تلفیقی ۷۰/۳۰	شیمیایی ۵۰/۵۰
کلسترول	درصد	0.1500	0.0060	0.1800	0.0300	0.4600
	نسبت (mg/kg)	1.0329 ^c	0.0404 ^e	1.2244 ^b	0.2020 ^d	3.8585 ^a
براسیکا استرول	درصد	0.0700	0.1000	0.01<	0.01<	0.0200
	نسبت (mg/kg)	0.4820 ^b	0.6734 ^a	-	-	0.1678 ^c
ارگسترول	درصد	-	-	-	0.0400	0.1200
	نسبت (mg/kg)	-	-	-	0.2693 ^a	2.2868 ^b
۲۴-متیلین کلسترول	درصد	0.1400	0.0300	0.0300	0.0200	0.0200
	نسبت (mg/kg)	0.9640 ^b	0.2020 ^c	0.2041 ^c	0.1346 ^c	3.4302 ^a
کامپسترول	درصد	12.0260	14.2800	12.0600	13.4900	12.6300
	نسبت (mg/kg)	82.8070 ^e	96.1572 ^c	82.0378 ^e	90.8171 ^d	303.5767 ^a
کمپستانول	درصد	-	-	0.0100	-	0.0800
	نسبت (mg/kg)	-	-	0.0680 ^b	-	0.6710 ^a
استیگما استرول	درصد	20.7100	20.4100	20.9950	21.9800	20.3100

تلفیقی ۵۰/۵۰	شیمیایی	تلفیقی ۷۰/۳۰	زیستی	شاهد	تریکودرما	واحد	انواع کود انواع استرول
170.361 ^b	234.2095 ^a	147.973 ^c	142.8178 ^d	137.434 ^e	142.602 ^d	نسبت (mg/kg)	
0.4400	0.1500	0.4500	0.2300	0.1300	0.3100	درصد	
3.6908 ^a	2.8585 ^c	3.0295 ^b	1.5646 ^e	0.8754 ^f	2.1346 ^d	نسبت (mg/kg)	کمپسترول -دلتا-۷
-	-	-	-	-	0.1600	درصد	دلتا-۵-۲۳
-	-	-	-	-	1.1017 ^a	نسبت (mg/kg)	استیگماستادی انول
0.7600	0.1100	0.2900	0.6900	0.2400	0.4900	درصد	
6.3749 ^a	2.0963 ^d	1.9523 ^d	4.6937 ^b	1.6161 ^f	3.3740 ^c	نسبت (mg/kg)	کلرسترول
51.8800	62.2700	48.4700	49.8900	47.3400	50.8500	درصد	
435.173 ^b	1186.674 ^a	326.308 ^{bc}	339.375 ^c	318.7733	350.13 ^{bc}	نسبت (mg/kg)	بتاسیتوسترول
0.4100	0.5600	0.7300	1.4000	3.6900	2.6000	درصد	
3.4391 ^d	10.6719 ^c	4.9145 ^d	9.5235 ^c	24.8473 ^a	17.9027 ^b	نسبت (mg/kg)	سیتواستانول
7.0000	0.5500	11.6100	10.6500	8.7100	7.7400	درصد	
58.7165 ^c	10.4813 ^e	78.1606 ^a	72.4463 ^b	58.6505 ^c	53.2951 ^d	نسبت (mg/kg)	دلتا-۵-آوناسترول
2.2300	1.9800	0.2400	0.6300	2.1400	1.0800	درصد	دلتا-۵-۲۴
18.7054 ^b	37.7327 ^a	1.6157 ^f	4.2856 ^e	14.4101 ^c	7.4365 ^d	نسبت (mg/kg)	استیگماستادی انول
0.4900	3.8600	0.3900	0.3000	0.5100	0.5700	درصد	دلتا-۷-استیگما
4.1102 ^b	73.5597 ^a	2.6256 ^{cd}	2.0407 ^d	3.4342 ^{bc}	3.9248 ^b	نسبت (mg/kg)	استتول
2.1800	1.4200	1.8800	2.1500	2.0900	2.6500	درصد	
18.2860 ^b	27.0608 ^a	12.6565 ^d	14.6253 ^c	14.073 ^{cd}	18.2470 ^b	نسبت (mg/kg)	استرول دلتا-۷-اونا
0.6800	0.4900	0.3800	0.7500	0.2600	0.4100	درصد	
5.7039 ^b	9.3379 ^a	2.5582 ^c	5.1019 ^b	1.7508 ^c	2.8231 ^c	نسبت (mg/kg)	اریترودیول
0.3900	0.0700	-	-	-	-	درصد	
3.2713 ^a	1.3340 ^b	-	-	-	-	نسبت (mg/kg)	اوانول
7734.8 ^{cd}	42630.8 ^a	12293.4 ^c	4560.10 ^d	27879.4 ^b	12153 ^c	سطح کل	
922.12 ^e	4474.05 ^a	3652.13 ^c	670.36 ^f	4140.28 ^b	1765.00 ^d	کستان سطح ألفا	
838.80 ^b	1905.69 ^a	673.21 ^d	680.24 ^d	673.36 ^d	688.56 ^c	نسبت استرول کل	

بحث

به‌طور کلی امروزه به لزوم و اهمیت استفاده از انواع کودها که تأمین‌کننده‌ی مواد موردنیاز برای رشد گیاهان است بسیار توجه می‌شود. با کشت محصولات به‌طور پی‌درپی خاک‌های زراعی از جهت مواد غذایی فقیر می‌شود و با مصرف کودها می‌توان این کمبود را جبران کرد و در پی آن رشد و نمو گیاه و بازدهی محصولات افزایش یابد. استفاده از مقادیر مناسب کودها برای رشد گیاهان ضروری است و نکته‌ای که باید در مصرف کودهای شیمیایی در نظر گرفت استفاده‌ی بی‌رویه و غیرمعمول آن‌ها است که باعث سمیت در محصولات گیاهی و همچنین آلودگی‌های آب، خاک و... می‌شوند و برای سلامتی انسان مشکلات زیادی را به دنبال دارد. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در زمینه‌ی کاربرد کودهای زیستی بر گیاهان دارویی و خوراکی انجام شده است.

بررسی نتایج به‌دست‌آمده از به‌کارگیری کودهای مختلف نشان می‌دهد که بیشترین افزایش در طول ساقه، وزن خشک ساقه و ریشه، وزن تر ساقه و ریشه، وزن هزار دانه و تعداد کپسول در شرایط استفاده از کود تلفیقی و زیستی است. تعداد کپسول در گیاه یکی از اجزای مهم عملکرد است که دربرگیرنده‌ی تعداد دانه و از طرف دیگر تأمین مواد فتوسنتزی موردنیاز گیاه است. با کاربرد کود زیستی که باعث افزایش جذب عناصر پرمصرف و ریزمغذی‌های موردنیاز گیاه می‌شود (Sumbul *et al.*, 2020) و با ترشح اسیدآمین، سیانید هیدروژن و سیدروفورها حاصلخیزی خاک افزایش و به دنبال آن نیز افزایش می‌یابد. افزایش پارامترهای رشد در بررسی شالان (۲۰۰۵) بر سیاه‌دانه با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشته است (Shalan, 2005). نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیقات حاکی از آن است که کودهای زیستی می‌تواند گزینه‌ی مناسبی برای جایگزینی کودهای شیمیایی برای کشت سیاه‌دانه باشد. بارال و همکاران (۲۰۱۳) نیز رشد بهتر ذرت را کودهای زیستی نسبت به کود شیمیایی بیان کردند (Baral & Adhikari, 2013). تلان و همکاران (۲۰۰۴) طی تحقیقات خود بر روی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) اظهار داشتند که تلقیح از تو باکتر موجب افزایش معنی‌داری در ارتفاع، شاخه‌ی جانبی و عملکرد دانه گیاه در مقایسه با شاهد شده است (Tehlan *et al.*, 2004). این افزایش در صفات تعداد دانه، تعداد سنبله، نیتروژن دانه، عملکرد کاه و عملکرد در تیمار از تو باکتر در گندم نیز مشاهده شده است (فلاح، ۱۳۹۳). باکتری‌های مورد استفاده با تولید هورمون‌های محرک، رشد گیاه را افزایش می‌دهند و با افزایش تقسیمات سلولی سبب افزایش عملکرد گیاهان می‌شوند. باکتری‌های موجود در کود زیستی از تو علاوه بر تثبیت نیتروژن و متعادل کردن آن موجب توسعه‌ی ریشه و قسمت‌های هوایی گیاه می‌شوند (Khalid *et al.*, 2004). نیتروژن با تسهیل اختصاص ماده خشک بیشتر به بوته سبب افزایش رشد رویشی و فراهم‌سازی بهتر برای استفاده از نور و فتوسنتز بیشتر و در نتیجه

رشد بهتر گیاه می‌شود و علاوه بر تثبیت نیتروژن موجب آزادسازی هورمون‌های اکسین و اسید جیبرلیک (Sumbul *et al.*, 2020) و در دسترس شدن جذب عناصر برای گیاه می‌شود و همچنین بیوماس را افزایش می‌دهد (علیخانی و همکاران، ۱۳۹۲). تعداد دانه در کپسول، ظرفیت مخزن گیاه را تعیین می‌کند، در نتیجه تعداد دانه بیشتر گیاه، مخزن بیشتری برای دریافت مواد فتوسنتزی و افزایش سرعت انتقال مواد به مخزن نهایی را به دنبال داشته و در نهایت باعث افزایش عملکرد گیاه شده است (Sumbul *et al.*, 2020; Shaalan, 2005).

از آنجایی که قارچ تریکودرما سبب بهبود رشد در سبزیجات و صیفی جات شد، در پژوهش حاضر نیز استفاده از این قارچ برای اولین بار بر روی گیاه سیاه‌دانه مورد بررسی قرار گرفته و سبب افزایش شاخص‌های رشدی شده است. لازم به ذکر است کاربرد این قارچ بر روی گیاهان دارویی کمتر مورد استفاده قرار گرفته است علاوه بر آن تریکودرما به‌عنوان آفت‌کش زیستی عمل کرده و با پاتوژن‌ها مقابله می‌کند بنابراین می‌تواند گزینه مناسبی برای کاهش کودهای شیمیایی باشد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: بررسی نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد استفاده از کودهای تلفیقی و شیمیایی سبب افزایش محتوای کلروفیل *a* برگ‌های گیاه سیاه‌دانه می‌شود اما کود زیستی به‌تنهایی سبب کاهش محتوای این نوع کلروفیل شده است. بررسی نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد استفاده از کود زیستی سبب افزایش محتوای کلروفیل *b* شده و استفاده از کود تلفیقی سبب افزایش کاروتنوئید اما کود زیستی، شیمیایی و تریکودرما هر یک به‌تنهایی کاهش کاروتنوئید را سبب شدند. رنگیزه‌های فتوسنتزی از اجزای اصلی کلروپلاست برای دریافت نور و تولید عوامل احیایی هستند و نوعی ارتباط مثبت بین محتوای کلروفیل و میزان فتوسنتز گیاه وجود دارد، به‌طوری‌که با کاهش کلروفیل، فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد (Tian & Lei, 2007). با توجه به نقش ازت در ساختار فتوسنتزی گزارشات حاکی از این است که کود زیستی نیتروژن از طریق کمک به جذب عناصر به‌ویژه نیتروژن و نقش این عنصر در تولید کلروفیل و تأمین آنزیم‌های مورد نیاز گیاه، می‌تواند سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی در گیاه شود (Darzi, 2007)، همچنین کود زیستی با افزایش جذب نور خورشید به افزایش میزان کلروفیل کمک می‌کند (Tahami *et al.*, 2010; Sifola & Barbieri, 2006).

محتوای پروتئین: در پژوهش حاضر محتوای پروتئین برگ کود زیستی، تلفیقی و شیمیایی و تریکودرما سبب افزایش پروتئین برگ شده‌اند. ازت نقش حیاتی در فعالیت آنزیم‌های سنتز کننده پروتئین دارد، همچنین ساختار اسیدهای آمینه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از طرفی دیگر فعالیت باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن با تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز، کاهش تلفات گیاه و افزایش بازایافت کود نیتروژن را باعث می‌شود افزایش پروتئین دانه ذرت در تیمار با کود زیستی نیتروژن با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (بلوچی، ۱۳۹۱).

آنزیم کاتالاز و ترکیبات آنتی‌اکسیدان: ترکیبات فنلی یا پلی فنل‌ها به توجه خواص آنتی‌اکسیدانی برای سلامتی مفید هستند (Pereira *et al.*, 2007). نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که کاهش میزان محتوای فنل کل دانه و برگ در تیمار به ترتیب از کودهای تریکودرما، شیمیایی، زیستی و تلفیقی مشاهده شده است. مطالعات نشان داده که عوامل مختلفی بر درصد میزان ترکیبات فنلی در گیاه مؤثر است که از جمله آن می‌توان به عوامل ژنتیکی، شرایط محیطی و سیستم تغذیه‌ای گیاه اشاره کرد همچنین زمان برداشت گیاه، بر میزان این ترکیبات مؤثر است. تجمع مواد فنلی، حساس به تنش عناصر غذایی است و میزان کل ترکیبات فنلی با کاهش میزان نیتروژن محیط افزایش می‌یابد. بنابراین، مقادیر اضافی نیتروژن معمولاً رشد را تحریک و از تولید ترکیبات فنلی جلوگیری می‌کند (Omidbaigi & Nobakht, 2001; El-Gendy *et al.*, 2013). این کاهش در گوجه‌فرنگی در تیمار با کود تریکودرما (ملکی زیارتی، ۱۳۹۰) نیز مشاهده شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. از طرفی کودهای به‌کاررفته در این پژوهش می‌تواند با تأثیر بر آنزیم‌های PAL، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و بر محتوای ترکیبات فنلی مؤثر واقع شود (Singh *et al.*, 2002).

نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ گیاه سیاه‌دانه را نشان می‌دهد که کاتالاز با تأثیر بر آب‌اکسیژنه به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان آنزیمی توانسته است شرایط مناسبی را برای رشد گیاه ایجاد کند. در این پژوهش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند فنل تأثیر چشمگیری در کاهش رادیکال‌های آزاد نداشته است و در اینجا تنها می‌توان به نقش مهم آنزیم کاتالاز اشاره کرد. نوربخش و همکاران (۱۳۹۲) نیز با مصرف کود نیتروکسین نشان دادند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه رزماری افزایش یافته است؛ همچنین تریکودرما باعث افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در گوجه‌فرنگی و افزایش مقاومت به کمبود آب شده است (Mastouri *et al.*, 2012).

فیتواستروئول دانه: بررسی نتایج به‌دست‌آمده از به‌کارگیری کودهای مختلف بر فیتواستروئول کل گیاه سیاه‌دانه نشان داد که استفاده از تمامی کودهای شیمیایی، زیستی، تلفیقی و تریکودرما نسبت به تیمار شاهد موجب افزایش می‌شود. بیشترین افزایش با اعمال کود شیمیایی و بعد از آن به ترتیب تیمار زیستی، تلفیقی و تریکودرما سبب افزایش فیتواستروئول دانه شدند. پژوهش حاضر برای اولین بار اثر تیمارهای مختلف کود زیستی از توباکتر، کود شیمیایی اوره، قارچ تریکودرما و همچنین تلفیق کود زیستی و شیمیایی و اثر مقایسه‌ای آن‌ها بر روی گیاه سیاه‌دانه را بررسی کرد و نشان داد که تیمارهای نامبرده باعث افزایش انواع فیتواستروئول شده است. افزایش جذب نیتروژن در کودهای به‌کاررفته در پژوهش حاضر می‌تواند تبدیل اسیدهای آمینه را به پروتئین افزایش دهد که به دنبال افزایش سنتز پروتئین افزایش سنتز اسیدهای چرب نیز افزایش می‌یابد (Elhanafi *et al.*, 2019).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی با به‌کارگیری کودهای زیستی، شیمیایی و... شاهد افزایش در برخی شاخص‌های رشد کمی و کیفی گیاه سیاه‌دانه بوده‌ایم و در مجموع با توجه به اثر کودها بر روی عوامل مختلفی که مطالعه شده است به نظر می‌رسد که برای رشد و نمو و تولید گیاه مهم سیاه‌دانه کاربرد کودهای تلفیقی پاسخ‌های بهتری را به همراه داشته است و استفاده از کودهای تلفیقی و زیستی بازدهی بیشتر را سبب گردیده است.

منابع

بلوچی، ۱۳۹۱، تأثیر کود زیستی نیتروژن و فسفر بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت شیرین (*Zea mays*)، مجله‌ی پژوهش‌های تولیدات گیاهی. جلد ۱۹. شماره ۴.

خرمدل. س، کوچکی. ع، نصیری محلات. م، اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاه‌دانه، ۱۳۸۹.

شکوه‌فر. ع، خانی. س، ۱۳۹۷. بررسی اثر توأم کودهای زیستی و شیمیایی فسفر و نیتروژن بر ویژگی‌های کمی و کیفی آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*). دو فصلنامه‌ی علوم به‌زراعی گیاهی. شماره ۲.

فلاح. ع، مؤمنی. س، شریعتی. ش، ۱۳۹۳. تأثیر کود زیستی و نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد گندم در شرایط گلخانه‌ای. مهندسی زراعی. جلد ۳۷. شماره ۲.

کنعانی الوار. ع، راعی. ی، زهتاب سلماسی. س، نصراله زاده. ص. ۱۳۹۲. بررسی اثر کودهای زیستی و نیتروژنی بر عملکرد و برخی از صفات مورفولوژیکی دو رقم جو بهاره در شرایط دیم. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار. جلد ۲۳. شماره ۱.

علیخانی. آ، ایرانپور. آ، نقدی بادی. ح، تغییرات عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* Moench (L.)) تحت تأثیر اوره و کود زیستی، ۱۳۹۲.

ملکی زیارتی. ح، روستایی. ع، اله امینیان. ح، بررسی امکان کنترل زیستی نماتد مولد گره ریشه گوجه فرنگی به وسیله قارچ تریکودرما و تغییرات کمی ترکیبات فنلی در گیاه، ۱۳۸۸.

منبری. س، علیزاده سالطه. س، بلندنظر. ص، ساریخانی. م. ۱۳۹۶. ارزیابی تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد شنبلیه (*Trigonella foenum-graecum*). نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار. جلد ۷۲. شماره ۴.

فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی- دوره ۳۴، شماره ۲، پیاپی ۶۸، تابستان ۱۴۰۰ / ۱۸

مهتدی. م، میرهادی. م. ج، بهادری. م. ۱۳۹۲. بررسی اثرات کودهای زیستی حاوی باکتریهای تثبیت کننده غیرهمزیست نیتروژن و حل کننده فسفات بر روی صفات کمی و کیفی گندم (*Triticum aestivum*). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۱۳. شماره ۴.

نوربخش. ف، چالوی؛ و اکبرپور. ۱۳۹۲، تأثیر کودهای زیستی بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی رزماری.

یوسفی. ا، شریفی. پ. ۱۳۹۶. تأثیر کود نیتروژن و کود زیستی آزوسپیریلوم برازیلنس روی برخی ویژگیهای گندم در منطقه جوزان اصفهان. نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی. شماره چهارم.

Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. and Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO irrigation and drainage paper 56. Fao, Rome 300: D05109.

Baral, B.R. and Adhikari, P. (2013). Effect of Azotobacter on growth and yield of maize. SAARC Journal of Agriculture 11: 141-147.

Bhattacharjee, R. and Dey, U. (2014) Biofertilizer, a way towards organic agriculture: A review. African Journal Microbiol Research 8: 2332-2342.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Darzi, M. (2007). Evaluation the effects of bio-fertilizers on quantitative and qualitative performance of Fennel for receiving to sustainable agriculture system. Ph. D. thesis. University of Tarbiat Modares. 115 pp.(In Persian).

Dhindsa, R., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Experimental Botany 32: 93-101.

Duke, J.A. (1983). Handbook of energy crops. Handbook of Energy Crops.

El-Gendy, A., Hegazy, T.A. and El-Sayed, S. (2013). Effect of biofertilizers and/or urea on growth, yield, essential oil and chemical compositions of *Cymbopogon citratus* plants. Journal of Applied Sciences Research, 9: 309-320.

- Elhanafi, L., Houhou, M., Rais, C., Mansouri, I., Elghadraoui, L. and Greche, H. (2019). Impact of Excessive Nitrogen Fertilization on the Biochemical Quality, Phenolic Compounds, and Antioxidant Power of *Sesamum indicum* L Seeds. *Journal of food Quality* 2019:1-6.
- Kalidasu, G., Reddy, G.S., Kumari, S.S., Kumari, A.L. and Sivasankar, A. (2017). Secondary volatiles and metabolites from *Nigella sativa* L. seed. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 8:151-158 .
- Khalid, A., Arshad, M. and Zahir, Z. (2004). Screening plant growth- promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Apply Microbiology* 96(3):473-480
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids :pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Mastouri, F., Björkman, T. and Harman, G.E. (2012). *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. *Molecular Plant Microbe Interact ions* 25: 1264-1271.
- Omidbaigi, R. and Nobakht, A. (2001). Nitrogen fertilizer affecting growth, seed yield and active substances of milk thistle (*Silybum marianum*). *Pakistan Journal of Biology Science* 4(11):1345-1349 .
- Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P .,Andrade, P.B., Ferreira, I.C., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R. and Estevinho, L. (2007). Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chemistry Toxicology* 45: 2287-2295.
- Sabir, S.M., Hayat, I. and Gardezi, S.D.A. (2003). Estimation of sterols in edible fats and oils. *Pakistan Journal of Nutrition* 2(3):178-181.
- Shalan, M. (2005). Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 83: 811-828.
- Sifola, M.I. and Barbieri, G. (2006). Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. *Scientia Horticulturae* 108: 408-413.
- Singh, S.K., Singh, B. and Singh, M.B. (2002). Response of nigella (*Nigella sativa* L.) to seed rate and row spacing. *Progressive Agriculture* 2: 80-81.

- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Sumbul, A., Ansari, R.A., Rizvi, R. and Mahmood, I. (2020). Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27: 3634.
- Tahami, Z.S., Rezvani, M.P. and Jahan, M. (2010). Comparison the effect of organic and chemical fertilizers on yield and essential oil percentage of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agroecology* 2(1): 70-82.
- Tehlan, S., Thakral, K. and Nandal, J. (2004). Effect of Azotobacter on plant growth and seed yield of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Haryana Journal of Horticultural Science* 33(3/4): 287-288.
- Tian, X. and Lei, Y.B. (2007). Physiological responses of wheat seedlings to drought and UV-B radiation. Effect of exogenous sodium nitroprusside application. *Russian Journal of Plant Physiology* 54: 676-682.
- Zhu, K.-X., Lian, C.-X., Guo, X.-N., Peng, W. and Zhou, H.-M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry* 126: 1122-1126.

Evaluation of the effect of Nitrogen fertilizer and Urea fertilizer on some physiological, phytochemical and antioxidant capacity of *Nigella sativa* L.

F. Hadinejade¹, A. Salimi^{2*}, M. Chavoushi³

Received:2020.9.13

Accepted:2020.12.19

Abstract

In recent years, the use of biofertilizers as an alternative to some chemical fertilizers has been considered. On the other hand, chemical fertilizers increase the yield of agricultural products. Also, replacing part of chemical fertilizer with biological fertilizer can bring good economic benefits for farmers, including reducing soil pollution, increasing soil fertility, and improving plant growth. The purpose of this study is to investigate the effect of Azotobacter, chemical urea, combinations of biological and chemical fertilizers (50/50 and 30/70) and, Trichoderma fungi on the black seeds, so these experiments were randomized complete blocks design and three replications for each test in the field. all treatments of fertilizers increased shoot and root lengths, root fresh weight, root dry weight, shoot dry weight, capsule number, seed number in capsule, 1000 seed weight, capsule number, antioxidant activity, and phytosterol. Bio-fertilizer increased leaf protein contents, leaf catalase enzyme activity, chl *b* content, and phytosterol, combinations of biological and chemical fertilizers increased chl *a* content, Total chlorophyll, leaf and seed protein content. Trichoderma increased seed protein content. Bio-fertilizer and combinations of biological and chemical fertilizers provided plant nutrition and increased growth. Biofertilizers in form of a combination of biological and chemical fertilizers reduced the excessive consumption of chemical fertilizers and the pollution caused by it and it will lead to better performance. According to the available results, combined fertilizer treatments and Trichoderma fungi had the greatest effect on the measured parameters.

Keywords: *Azotobacter*, *Biofertilizer*, *Phytosterol* , *Nigella sativa* L, *Trichoderma*.

1- Graduated MSc Student, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2- Assistance Professor of Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

*(Corresponding author: Salimi@khu.ac.ir)

3- Graduated PhD student, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran