فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۲، پیاپی ۶۸، تابستان ۱۴۰۰، ص ۱۶۸-۱۸۶
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.2, Ser. 68, Summer 2021, p. 146-167
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۲۹

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.33048.1379

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

فائزه هادی نژاد[1]، اعظم سلیمی*[2]، مریم چاوشی[3]

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 به‌جای کود شیمیایی می‌تواند مزایای اقتصادی مناسبی را برای کشاورزان به همراه داشته باشد، که ازجمله‌ی 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 به‌صورت 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 وکارایی 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، کود زیستی، فیتواسترول، سیاه‌دانه، تریکودرما.

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 آلالگان (Ranunculaceae) می‌باشد. بذرهای سیاه‌دانه مصرف خوراکی دارند و حاوی ترکیبات دارویی و متابولیت‌های ثانویه است. از ترکیبات دارویی آن می‌توان به تیموکینون، فیتواسترول، آلکالوئید، 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 خاکزی 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 به‌جای 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 شنبلیله 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 به‌جای کودهای شیمیایی یکی از آرزوهای محققینی است که در زمینه‌ی سالم‌سازی تغذیه‌ی انسان تلاش می‌کنند (Talaei & Gholami, 2014) از این رو، در این پژوهش بذرهای گیاه گونه *Nigella sativa* L. برای مطالعه‌ی انتخاب و تأثیر کود زیستی ازتِ و کود شیمیایی اوره بر برخی ترکیبات متابولیک ثانویه ازجمله فیتواسترول و نیز خواص آنتی‌اکسیدانی بذرهای 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 مورداستفاده 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 جوانه‌زنی
کود تلفیقی شیمیایی و زیستی با نسبت‌های (۵۰/۵۰ و ۷۰/۳۰)	هریک به‌صورت 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 پس‌ازآن پر شدن دانه‌ها و رسیدگی فیزیولوژیک در نیمه‌ی تیر اتفاق افتاد و درنهایت 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

طول‌موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (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).

Chl*a* (mg ml^{-1}) = 12.25 × $A_{663.2}$ – 2.79 × $A_{646.8}$

Chl*b* (mg ml^{-1}) = 21.51 × $A_{646.8}$ – 5.1 × $A_{663.2}$

Chl (*a*+*b*) = Chl*a*+ Chl*b*

Car mg ml^{-1}= (1000 × A_{470} – 1.8 × Chl*a* – 85.52 × Chl*b*) / 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 مورداستفاده 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 (pH۶/۸)، 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 اسپکتروفتومتر (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 درنهایت 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 اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) جذب نمونه در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر در مقابل محلول شاهد اندازه‌گیری شد؛ و مقدار پروتئین

نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد آلبومن گاوی به ازای میلی‌گرم در گرم وزن‌تر 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 رقیق‌شده (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 طول‌موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان گردید (Singleton & Rossi, 1965).

۶- ترکیبات فنلی دانه

به‌منظور انجام سنجش‌های بیوشیمیایی بر روی گیاه سیاه‌دانه کپسول‌های خشک‌شده 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 رقیق‌شده (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 طول‌موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان گردید (Singleton & Rossi, 1965).

۷-اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی 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 به‌خوبی مخلوط شد و به مدت یک ساعت در تاریکی نگه‌داری شد. جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) در ۵۱۷ طول‌موج 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= (Abs of control - Abs of sample/ Abs of control)× 100

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

۸- سنجش فیتواسترول 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 طول‌موج ۶۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. این معرف با استرول‌ها واکنش می‌دهد و رنگ سبز درخشانی را ایجاد می‌کند. برای تعیین فیتواسترول کل، از استیگما استرول به‌عنوان استاندارد استفاده شد و درصد فیتواسترول کل (وزن خشک) هر یک از نمونه‌های بذر محاسبه شد (Sabir *et al.*, 2003). فیتواسترول‌های 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 استرول شامل کلسترول، براسیکا استرول، ارگسترول، ۲۴- متیلن کلسترول، کمپسترول، کمپستانول، استیگما استرول، دلتا-۷-کمپسترول، دلتا-۵-۲۴ استیگمااستادی انول، کلرسترول، بتاسیتواسترول، سیتواستانول، دلتا -۵ اونااسترول، دلتا-۷-استیگمااستنول، دلتا-۷-اونااسترول، اریترودیول و اوائول مورداستفاده 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 تجزیه‌ی 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 معنی‌داری 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 معنی‌داری نسبت به شاهد داشته‌اند اما کود شیمیایی تأثیر معنی‌داری نسبت شاهد نداشته است (جدول ۲).

رنگیزه‌های 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 رنگیزه 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 معنی‌داری بر مقدار کلروفیل *b* نسبت به شاهد نداشتند. کودهای زیستی، شیمیایی، کود تلفیقی در دو سطح و همچنین قارچ تریکودرما تأثیر معنی‌داری 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 معنی‌داری 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 معنی‌دار پروتئین برگ نسبت به شاهد داشته‌اند (جدول ۳).

بررسی محتوای پروتئین دانه نشان داد که اثر کود تلفیقی با نسبت ۳۰/۷۰ افزایش معنی‌داری در مقدار پروتئین دانه نسبت به شاهد داشته است، این در حالی است که کود شیمیایی کاهش معنی‌داری در سطح پروتئین دانه نسبت به شاهد نشان داده است. سایر تیمارها اثر معنی‌داری 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 همه‌ی تیمارهای مذکور نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری 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 معنی‌دار آنتی‌اکسیدان دانه نسبت به شاهد شدند ولی کود زیستی نسبت به شاهد معنی‌دار 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 همه‌ی تیمارهای مذکور نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۴).

فیتواسترول دانه

اثر کودهای زیستی، شیمیایی، تلفیقی و تریکودرما باعث افزایش فیتواسترول کل در دانه شده است (جدول ۴). مطابق این جدول بتاسیتواسترول عمده‌ترین ترکیب موجود در فیتواسترول 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 استرول که بعد از بتاسیتواسترول 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 استرول 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 فیتو استرول‌های ذکرشده در جدول (۵) نسبت به شاهد افزایش را نشان دادند و استرول‌های عمده در گیاه سیاه‌دانه به ترتیب بتا سیتواسترول، استیگما استرول، کامپسترول و دلتا ۵-اونا استرول بودند؛ و نسبت استرول کل در فیتواسترول‌های عمده در گیاه سیاه‌دانه در مقایسه با شاهد در تیمارهای ذکرشده با نسبت‌های ۱۹۰۵/۶۹، ۸۳۸/۸۰، ۵۶/ 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 استرول 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 استرول کل و همچنین بتا سیتواسترول داشته است که عمده‌ترین ترکیب

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

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

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

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

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

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 معنی‌داراست.

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	تلفیقی ۵۰/۵۰
کلسترول	درصد	0.1500	0.0060	0.1800	0.0300	0.0070	0.4600
	نسبت (mg/kg)	1.0329 [c]	0.0404 [e]	1.2244 [b]	0.2020 [d]	0.1334 [d]	3.8585 [a]
براسیکا استرول	درصد	0.0700	0.1000	0.01<	0.01<	0.0010	0.0200
	نسبت (mg/kg)	0.4820 [b]	0.6734 [a]	-	-	0.0191 [d]	0.1678 [c]
ارگسترول	درصد	-	-	-	0.0400	0.1200	-
	نسبت (mg/kg)	-	-	-	0.2693 [a]	2.2868 [b]	-
۲۴-متیلن کلسترول	درصد	0.1400	0.0300	0.0300	0.0200	0.1800	0.0200
	نسبت (mg/kg)	0.9640 [b]	0.2020 [c]	0.2041 [c]	0.1346 [c]	3.4302 [a]	0.1678 [c]
کامپسترول	درصد	12.0260	14.2800	12.0600	13.4900	15.9300	12.6300
	نسبت (mg/kg)	82.8070 [e]	96.1572 [c]	82.0378 [e]	90.8171 [d]	303.5767 [a]	105.941 [b]
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	12.2900	20.3100
	نسبت (mg/kg)	142.602 [d]	137.434 [e]	142.8178[d]	147.973 [c]	234.2095 [a]	170.361[b]
کمپسترول -دلتا-۷	درصد	0.3100	0.1300	0.2300	0.4500	0.1500	0.4400
	نسبت (mg/kg)	2.1346 [d]	0.8754 [f]	1.5646 [e]	3.0295 [b]	2.8585 [c]	3.6908 [a]

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

داده ها Mean ± SE را نشان می‌دهند، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌داراست.

بحث

به‌طورکلی 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 انجام‌شده 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 اسیدآمینه، 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 (Shaalan, 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 ازتو 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 ازتوباکتر در گندم نیز مشاهده شده است (فلاح، ۱۳۹۳). باکتری‌های مورداستفاده با تولید هورمون‌های محرک، رشد گیاه را افزایش می‌دهند و با افزایش تقسیمات سلولی سبب افزایش عملکرد گیاهان می‌شوند. باکتری‌های موجود در کود زیستی ازتِ 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 درنتیجه 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، درنتیجه تعداد دانه بیشتر گیاه، مخزن بیشتری برای دریافت مواد فتوسنتزی و افزایش سرعت انتقال مواد به مخزن نهایی را به دنبال داشته و درنهایت باعث افزایش عملکرد گیاه شده است (Sumbul et al., 2020; Shaalan, 2005).

ازآنجایی‌که قارچ تریکودرما سبب بهبود رشد در سبزیجات و صیفی‌جات شد، در پژوهش حاضر نیز استفاده از این قارچ برای اولین بار بر روی گیاه سیاه‌دانه موردبررسی قرارگرفته و سبب افزایش شاخص‌های رشدی شده است. لازم به ذکر است کاربرد این قارچ بر روی گیاهان دارویی کمتر مورداستفاده قرارگرفته 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 موردنیاز 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 محتوی 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 موردنیاز، کاهش تلفات گیاه و افزایش بازیافت 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 ازجمله 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 افزایش‌یافته است؛ همچنین تریکودرما باعث افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در گوجه‌فرنگی و افزایش مقاومت به کمبود آب شده است (Mastouri *et al.*, 2012).

فیتواسترول دانه: بررسی نتایج به‌دست‌آمده از به‌کارگیری کودهای مختلف بر فیتواسترول 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 فیتواسترول دانه شدند. پژوهش حاضر برای اولین بار اثر تیمارهای مختلف کود زیستی ازتوباکتر، 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 فیتواسترول 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

به‌طورکلی با به‌کارگیری کودهای زیستی، شیمیایی و... شاهد افزایش در برخی شاخص‌های رشد کمی و کیفی گیاه سیاه‌دانه بوده‌ایم و درمجموع 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 زیستیی و شیمیایی فسفر و نیتروژن بر ویژگی‌های کمی و کیفی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.). دو فصلنامه ی علوم به زراعی 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 (L.) Moench*) 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 تاثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*). نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار. جلد ۲۷. شماره ۴.

مهتدی. م، میرهادی. م. ج، بهادری. م. ۱۳۹۲. بررسی اثرات کودهای زیستی حاوی باکتریهای تثبیت کننده غیرهمزیست نیتروژن وحل کننده فسفات بر روی صفات کمی وکیفی 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*). Pakestan 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.

Shaalan, 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. Hadinejade[1], A. Salimi[2*], M. Chavoushi[3]

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