



Effect of Bio and Chemical Fertilizers on Some Physiological Responses and Yield of Black Cumin under Different Irrigation Levels

Mona Arvand¹ | Yousef Sohrabi²

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. E-mail: monaarvanduoksanandaj@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. E-mail: y.sohrabi@uok.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 15 October 2021

Received in revised form:

10 March 2022

Accepted: 18 April 2022

Published online:

17 December 2022

Keywords:

Azotobacter,
chlorophyll,
malondialdehyde,
proline,
soluble carbohydrates.

ABSTRACT

In order to investigate the effects of integrated management of chemical and biological fertilizers on physiological traits, and grain yield of black cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation levels, a split-plot experiment has been conducted based on a randomized complete block design with four replications at research farm University of Kurdistan in the spring of 2016. Two irrigation levels (irrigation at 100% and 70% of the plant water requirement) are randomized on the main plot. Five fertilizer levels (including 100% chemical fertilizers, 80% chemical fertilizers + biofertilizers, 60% chemical fertilizers + biofertilizers, 40% chemical fertilizers + biofertilizers, and non-fertilizer application) are randomized on a sub-plot. The results reveal that under irrigation at 70% of the plant water requirement conditions, proline concentration, soluble carbohydrates concentration, and lipid peroxidation have increased, while the values of other studied physiological parameters as well the grain yield have dropped. The combination of biological and chemical fertilizers positively affect the studied physiological traits and grain yield, such that the highest grain yield belongs to the combined treatment of 60% chemical fertilizers + biofertilizers (798.18 kg ha⁻¹), showing an increase of 37.22% compared to the control (without fertilizer). Due to the positive effects of combining bio-chemical fertilizers on physiological parameters and grain yield, it is recommended to replace the combination of bio-chemical fertilizers instead of employing only chemical fertilizers.

Cite this article: Arvand, M., & Sohrabi, Y. (2022). Effect of Bio and Chemical Fertilizers on Some Physiological Responses and Yield of Black Cumin under Different Irrigation Levels. *Journal of Crops Improvement*, 24 (4), 1373-1390. DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2022.332375.2629>



تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک و عملکرد سیاهدانه تحت سطوح مختلف آبیاری

مونا آرونند^۱ | یوسف سهرابی^۲

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: monaarvanduoksanandaj@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: y.sohrabi@uok.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

به‌منظور بررسی تأثیر مدیریت تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی تحت سطوح مختلف آبیاری بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه سیاهدانه، آزمایشی به‌صورت کرت‌های دوبرار خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در بهار سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کردستان اجرا شد. سطوح آبیاری شامل آبیاری به میزان ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه و ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه به‌عنوان فاکتور اصلی و سطوح کودی شامل ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و عدم استفاده از کود به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تحت شرایط آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه غلظت پرولین، کربوهیدرات‌های محلول در آب و الکل و پراکسیداسیون لیپیدی افزایش یافت، اما مقادیر سایر پارامترهای فیزیولوژیک موردبررسی و عملکرد دانه کاهش پیدا کرد. تلفیق کودهای زیستی و شیمیایی اثرات مثبتی بر صفات فیزیولوژیک موردبررسی و عملکرد دانه داشت، به‌طوری‌که بیش‌ترین عملکرد دانه از تیمار تلفیق ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی (۷۹۸/۱۸ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (بدون کود) ۳۷/۲۲ درصد افزایش نشان داد. با توجه به اثرات مثبت تلفیق کودهای زیستی و شیمیایی بر پارامترهای فیزیولوژیک و عملکرد دانه، جایگزین کردن تلفیق کودهای زیستی و شیمیایی به جای مصرف صرف کودهای شیمیایی پیشنهاد می‌شود.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۲/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

کلیدواژه‌ها:

ازتوباکتر،

پرولین،

کربوهیدرات‌های محلول،

کلروفیل،

مالون‌دی‌آلدهید.

استناد: آرونند، م. سهرابی، ی. (۱۴۰۱). تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک و عملکرد سیاهدانه تحت سطوح مختلف آبیاری.

بزرگای کشاورزی، ۲۴ (۴)، ۱۳۷۳-۱۳۹۰. DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2022.332375.2629>



۱. مقدمه

وسعت و تنوع آب‌وهوایی در ایران باعث شده است که این کشور از لحاظ تعداد و تنوع گونه‌های ارزشمند دارویی در جهان از جایگاه خاصی برخوردار باشد. ایران یکی از هفت کشور آسیایی است که بیش‌ترین گیاهان دارویی را دارد و در سه دهه گذشته شاهد روند رو به رشد استفاده از داروهای گیاهی و احیای طب سنتی بوده است (Omidbeygi, 2007). گیاه دارویی سیاهدانه با نام علمی (*Nigella sativa* L.) از خانواده آلاله (*Ranunculaceae*) می‌باشد. این گیاه بومی نواحی مدیترانه‌ای، غرب آسیا و خاورمیانه است. به‌طور گسترده در نواحی مدیترانه‌ای، جنوب اروپا، آفریقا و آسیا و در کشورهایی مانند هند، ایران، ترکیه، پاکستان و کشورهای عربی یافت می‌شود (Rezaei Chiyaneh et al., 2018).

حدود دو سوم مساحت زمین‌های ایران جزو مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. تنش‌های زنده و غیرزنده باعث کاهش تولیدات کشاورزی در نواحی خشک و نیمه‌خشک می‌شود و آب مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد گیاهان در این مناطق است. در این مناطق با توجه به کمبود نزولات آسمانی و توزیع نامناسب آن، تولید محصولات کشاورزی متکی بر آبیاری است و در عین حال، محدودیت منابع آب نیز از بزرگ‌ترین عوامل محدودکننده به‌ویژه در محصولات تابستانه می‌باشد (Sepaskhah & Khajehabdollahi, 2005). با توجه به افزایش جمعیت، نیاز به استفاده از منابع آب روز به روز بیش‌تر می‌شود، بنابراین منابع آب به‌طور فزاینده‌ای مورد تهدید قرار می‌گیرد. مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه در معرض خطر بیش‌تری هستند، به‌دلیل این‌که این نواحی از قبل در معرض کمبود شدید آب بوده‌اند و در حال حاضر نیز با خطر رو به افزایش خشکی مواجه هستند که کشاورزی را آسیب‌پذیرتر می‌سازد (Nawaz et al., 2015). آب یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی در تولید محصولات مختلف می‌باشد. به‌طوری‌که کمبود آب در جریان تولید گیاهان می‌تواند صدمات سنگینی به رشدونمو گیاهان دارویی وارد نماید (Rezaei-Chiyaneh et al., 2018; Mathur & Roy 2021; Moradzadeh et al., 2021). تنش خشکی نسبت به سایر تنش‌ها شدیدترین اثرات مخرب را بر گیاهان دارد و عامل بسیار مؤثر در توزیع گونه‌های مختلف گیاهی است. خشکی بر انتقال و دسترسی به عناصر غذایی موجود در خاک و ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان تأثیرگذار بوده و در نهایت، باعث افت عملکرد دانه می‌شود (Anli et al., 2020). تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های محلول و افزایش نشت یونی، مقدار مالون‌دی‌آلدئید و محتوای قندهای محلول در سیاهدانه شد (Kabiri et al., 2014).

نظر به این‌که در چند دهه اخیر مصرف نهاده‌های شیمیایی در اراضی کشاورزی موجب بروز مشکلات زیست‌محیطی متعددی از جمله آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش میزان حاصلخیزی خاک‌های زراعی شده است، کشاورزی پایدار بر پایه بهره‌مندی از منابع طبیعی همانند کودهای زیستی با هدف حذف یا کاهش چشم‌گیر در مصرف نهاده‌های شیمیایی یک راه حل مطلوب جهت غلبه بر این مشکلات به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌شمار می‌آید (Khorrandel et al., 2016; Moradzadeh et al., 2021). استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک‌زی به‌عنوان کودزیستی می‌تواند برای زنده و فعال نگه‌داشتن سیستم زیستی خاک مؤثر باشد. کودهای بیولوژیک درحقیقت انواع مختلفی از ریزموچودات آزادی یا هم‌زیست را شامل می‌شود، که اثرات مثبتی در تحریک رشد گیاه دارند و در برخی از فرایندهای کلیدی بوم‌نظام‌ها مانند فرایندهای دخیل در کنترل بیولوژیکی پاتوژن‌های گیاهی، چرخه عناصر غذایی و استقرار گیاهچه نقش دارند (Akhtar et al., 2007; Moradzadeh et al., 2021). امروزه کودهای زیستی به‌علت امتیازات بیوتکنولوژیکی که در افزایش عملکرد و کیفیت محصولات زراعی و توسعه کشاورزی ارگانیک دارند، بسیار موردتوجه قرار گرفته‌اند. از طرف دیگر کودهای زیستی، حاوی آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌های مفید و متنوعی هستند که افزایش رشد و بهبود عملکرد و کیفیت محصولات زراعی را فراهم می‌آورند و باعث کاهش هزینه‌های مصرف کودهای شیمیایی و کاربرد آفت‌کش‌ها می‌شوند.

استفاده از کودهای زیستی باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی، مقاومت به آفات و بیماری‌ها، افزایش فتوسنتز و افزایش کارایی مصرف آب می‌شود (Mamnabi et al., 2020; Khorramdel et al., 2016).

درک پاسخ گیاهان دارویی به تنش‌های محیطی جهت تولید و اصلاح ارقام متحمل به تنش کاملاً ضروری است. باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن مانند *ازتوباکتر*، حل‌کننده‌های فسفات و نیز قارچ میکوریزا از پرکاربردترین کودهای زیستی در زراعت گیاهان دارویی به‌شمار می‌روند. باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن مانند *ازتوباکتر* در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مواد زیستی فعال را دارند که در توسعه سیستم ریشه تأثیر مثبت و مفیدی دارند و با بهبود جذب آب و عناصر غذایی و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، عملکرد گیاهان زراعی و همچنین ویژگی‌های خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Moradzadeh et al., 2021). تلقیح بذور گیاهان با باکتری‌های محرک رشد باعث رشد و گسترش ریشه و در نهایت، افزایش توانایی گیاه در جذب آب و عناصر غذایی می‌شود (Zafar-ul-Hye et al., 2021). نتایج مطالعات قبلی حاکی از آن است که تلقیح با کودهای بیولوژیک در شرایط تنش خشکی باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ، افزایش محتوای کلروفیل، افزایش کربوهیدرات‌های محلول، افزایش محتوای پروتئین‌های محلول، بهبود پایداری غشای سلول، کاهش غلظت پرولین، افزایش کارایی فتوسنتزی و در نهایت، بهبود عملکرد در گیاهان می‌شود (Mamnabi et al., 2020; Moradzadeh et al., 2021; Zafar-ul-Hye et al., 2021; Hosseinifard et al., 2022).

Moradzadeh et al. (2021) گزارش کردند که بالاترین عملکرد دانه گیاه سیاهدانه در تیمار مصرف هم‌زمان ۵۰ درصد کود شیمیایی و ۵۰ درصد کود بیولوژیک ثبت شد. Abdel-Aziez et al. (2020) نیز اظهار داشتند که تلقیح بذور سیاهدانه با مخلوط چهار گونه کود زیستی و مصرف نصف مقدار کود نیتروژن توصیه‌شده در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده باعث افزایش تراکم فلور میکروبی و در نهایت باعث افزایش بهره‌وری و کیفیت گیاه سیاهدانه شد.

با توجه به اهمیت اقتصادی و دارویی سیاهدانه و لزوم توجه به کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار، این پژوهش به‌منظور ارزیابی کاربرد هم‌زمان سطوح مختلف کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد گیاه سیاهدانه تحت رژیم‌های مختلف آبیاری در راستای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی انجام شده است.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کردستان واقع در دشت دهگلان (۳۵ کیلومتری شرق شهرستان سنندج) با ارتفاع ۱۸۶۶ متر از سطح دریا و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۱۸ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۱۹ دقیقه انجام شد. اطلاعات هواشناسی منطقه طی دوره رشد محصول در جدول (۱) آمده است.

جدول ۱. میزان بارندگی ماهیانه و حداقل و حداکثر دمای محل اجرای آزمایش در سال ۱۳۹۵

ماه	میانگین دما (°C)	میانگین رطوبت (%)	مجموع بارندگی (mm)	میانگین تبخیر (mm)	ساعات آفتابی (h day ⁻¹)	میانگین سرعت باد (m s ⁻¹)
اردیبهشت	۱۳/۴۲	۴۵/۵	۵۷/۹	۳/۵	۱۲/۷	۳
خرداد	۱۸/۵۲	۳۴/۵	۱۴/۶	۸/۲	۱۲/۷	۳/۱
تیر	۲۴/۵۵	۳۲	۰/۵	۸/۴	۹/۶	۳/۱
مرداد	۲۶/۵	۱۸/۹	۰	۱۱/۳	۱۱/۸	۲/۵
شهریور	۲۱/۴	۳۴/۵	۰	۹/۵	۱۰/۶	۲/۷
مهر	۱۷/۷	۳۴/۹	۰	۵/۸	۱۰/۱	۲/۸

در این پژوهش، سطوح آبیاری به‌عنوان فاکتور اصلی و سطوح مصرف هم‌زمان کودهای شیمیایی و زیستی به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. سطوح آبیاری شامل آبیاری به میزان ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه بود. سطوح فاکتور کودی در پنج سطح شامل کاربرد ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی (تلفیقی ۱)، ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی (تلفیقی ۲)، ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی (تلفیقی ۳) و شاهد (بدون کود) بود.

جهت تهیه و آماده‌سازی زمین، زمین در بهار ۱۳۹۵ توسط گاواهن برگردان‌دار شخم زده شد. برای خرید کردن کلوخه‌ها از دیسک استفاده شد. ابعاد کرت‌های اصلی و فرعی به‌ترتیب ۱۱/۵×۴ متر و ۱/۵×۴ متر بود و در هر کرت فرعی شش خط کاشت با فواصل ۲۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. هر کرت فرعی شامل شش خط کاشت به طول چهار متر و عرض یک و نیم متر و مساحت شش مترمربع بود. فاصله بین کرت‌های اصلی و بلوک‌ها دو متر و فاصله بین کرت‌های فرعی ۷۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بذور مورد استفاده از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. عملیات کاشت به‌صورت دستی در اوایل خردادماه انجام شد. قبل از کاشت به‌منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه از نقاط مختلف زمین (شش نقطه) و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام گرفت. نتایج تجزیه خاک در جدول (۲) آمده است. براساس نتایج آزمون خاک برای تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی، مقدار ۱۳۰ کیلوگرم اوره (۴۶ درصد) و ۵۵ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل (۴۶ درصد) در خلال عملیات تهیه زمین، مصرف و با خاک مخلوط شد و برای سایر تیمارهای کودی به تناسب درصد میزان کود اوره و سوپرفسفات تریپل تعیین و مصرف شد.

جدول ۲. نتایج تجزیه خاک محل اجرای آزمایش

بافت خاک	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	کربن آلی (%)	هدایت الکتریکی (ds m ⁻¹)	pH	نیترژن کل (%)	پتاسیم قابل دسترس (ppm)	فسفر قابل دسترس (ppm)
لومی رسی	۳۱/۶	۲۹	۳۹/۴	۰/۹۵	۰/۴۹	۷/۶۲	۰/۰۹	۳۵۸/۱۵	۷/۵

کود زیستی مورد استفاده تلفیقی از کود زیستی از ته بارور-۱ حاوی باکتری‌های گونه ازتوباکتر وینلندی سویه ۴، کود زیستی فسفات‌ته بارور-۲ حاوی سودوموناس پوتیدا و پانتوآ آگلومرانس و کود زیستی پتاس بارور-۲ بود که از موسسه آب و خاک کشور تهیه شد. بذور سیاهدانه یک ساعت قبل از کشت با کودهای زیستی با نسبت‌های مشخص (۱۰۰ گرم در هکتار) و براساس دستورالعمل توصیه‌شده که شامل ۱۰^۸ عدد باکتری زنده و فعال در هر گرم کود زیستی تلقیح شدند. به این صورت که محتوای بسته با آب مخلوط و روی بذرها اسپری شد تا یک پوشش کاملاً یکنواخت روی سطح آن‌ها تشکیل شود و سپس بذرها در سایه و به دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک شدند. پس از خشک شدن بذور تلقیح‌شده، بلافاصله اقدام به کاشت آن‌ها شد. تا زمان استقرار کامل بوته‌های سیاهدانه، آبیاری برای تمام تیمارها به‌صورت یکسان و کامل و به‌روش آبیاری قطره‌ای انجام گرفت. بعد از استقرار بوته‌ها، تیمارهای آبیاری با توجه به نیاز آبی گیاه اعمال شد و جهت اعمال دقیق تیمارهای آبیاری از کنتور استفاده شد.

جهت تعیین نیاز آبی از روش تشک تبخیر استفاده شد (Kashyap & Panda, 2001; Chegini et al., 2010).

در این آزمایش از داده‌های مربوط به تشک تبخیر کلاس A به‌منظور برآورد مقدار نیاز آبی استفاده شد که رابطه‌های آن به شرح زیر می‌باشد:

$$ET_0 = KP \times ET_{pm} \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$ET_c = KC \times ET_0 \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$I = \frac{ET_c}{Ea} \quad \text{رابطه ۳}$$

$$V = \frac{I}{1000} \times A \quad \text{رابطه ۴}$$

که در آن‌ها، ET_0 : تبخیر و تعرق پتانسیل گیاه مرجع، K_p : ضریب تشنگ می‌باشد که با توجه به اطلاعات به‌دست‌آمده از اداره هواشناسی شهرستان سنندج برابر $0/875$ بود، ET_{pan} : مقدار تبخیر از تشنگ تبخیر برحسب میلی‌متر می‌باشد. مقادیر تبخیر از تشنگ شهرستان سنندج در سال 1395 ، در جدول (۱) آمده است، ET_c : تبخیر و تعرق گیاهی یا نیاز آبی، K_c : مقادیر ضریب گیاهی براساس مطالعه *Zarei et al.* (2017) در مراحل مختلف در نظر گرفته شد. Ea : راندمان آبیاری که با توجه به این‌که آبیاری به روش قطره‌ای بود، برابر $0/9$ در نظر گرفته شد، I : عمق آب آبیاری (میلی‌متر)، V : حجم آب آبیاری موردنیاز (برحسب متر مکعب)، A : سطح آزمایش (برحسب مترمربع).

به‌منظور اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک، نمونه‌برداری از واحدهای آزمایشی در زمان گلدهی گیاه و با در نظر گرفتن اثر حاشیه در هر کرت از بالاترین برگ‌های سبز کاملاً بالغ انجام شد. برای تعیین محتوای نسبی آب برگ از روش *Ritchie et al.* (1990) استفاده شد. اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی به روش *Heath & Parker* (1969) انجام شد. شاخص پایداری غشا از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیتی به روش *Liu et al.* (2005) ارزیابی شد. به‌منظور اندازه‌گیری مقدار پروکلین، از روش *Bates et al.* (1973) استفاده شد. ارزیابی کربوهیدرات‌های محلول برگ با استفاده از روش آنترون (*Yemn & Wills, 1954*)، انجام شد. پروتئین‌های محلول به روش *Bradford* (1976) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش *Arnon* (1967) استفاده شد. به‌منظور تعیین عملکرد دانه، هنگامی که رنگ بوته‌ها متمایل به زرد بود و هنوز کپسول‌ها شکاف برنداشته بودند بوته‌های دو مترمربع از هر کرت، پس از حذف اثر حاشیه برداشت شدند و عملکرد دانه تعیین شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه 9/1) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۳.۱. محتوای نسبی آب برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، تأثیر سطوح آبیاری، سطوح کودی و اثرات متقابل آن‌ها بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). کم‌ترین محتوای نسبی آب برگ ($64/18$ درصد) به تیمار آبیاری 70 درصد نیاز آبی گیاه و عدم کاربرد کود تعلق داشت که با تیمار کاربرد 100 درصد کودهای شیمیایی در شرایط آبیاری 70 درصد نیاز آبی گیاه اختلاف معنی‌داری نشان نداد. به‌طور کلی آبیاری به میزان 70 درصد نیاز آبی گیاه باعث کاهش $9/81$ درصدی محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شرایط آبیاری کامل شد. در تیمار 70 درصد نیاز آبی گیاه، کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی باعث بهبود معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با عدم مصرف کود شد (شکل ۱).

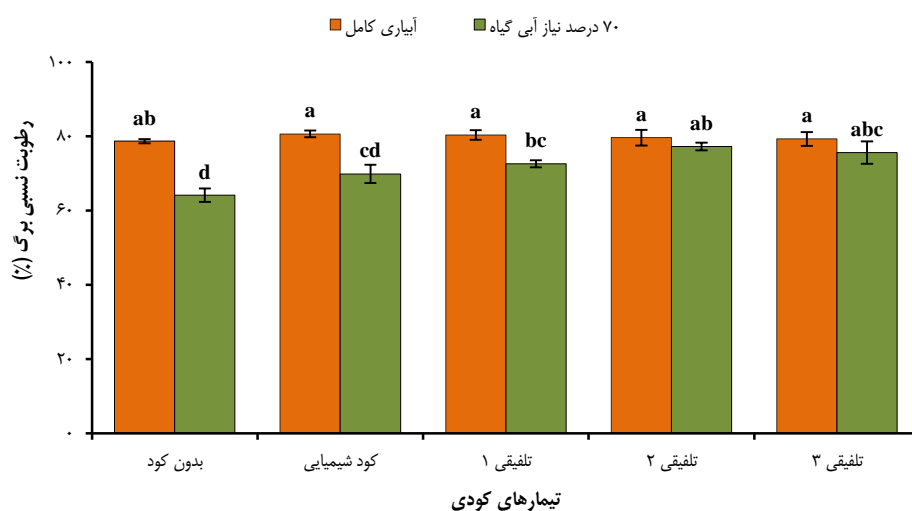
محتوای نسبی آب برگ یکی از مهم‌ترین شاخص‌های بیلان آبی گیاه است. محتوای رطوبت نسبی نقش مهمی در تنظیم هدایت روزنه‌ای و در نتیجه سرعت فتوسنتزی گیاه دارد. کاهش رشد و فعالیت ریشه و افزایش میزان تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی از عوامل دخیل در کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ شناخته شده‌اند (*Yan et al., 2016*; *Mamnabi et al., 2020*). بسیاری از پژوهش‌گران بر این باورند که که کاهش محتوای نسبی آب برگ تحت تنش کم آبی به‌دلیل انسداد روزنه‌ها می‌باشد، به این صورت که تنش کم آبی باعث سنتز هورمون آبسزیک‌اسید در ریشه و تجمع

آن در سلول‌های روزنه‌ای می‌شود، تجمع آبسزیک‌اسید در سلول‌های روزنه‌ای باعث انسداد روزنه‌ها و در نهایت کاهش محتوای نسبی آب برگ در گیاه می‌شود (Khan *et al.*, 2012; Yan *et al.*, 2016). بین میزان رطوبت خاک و محتوای نسبی آب برگ رابطه مستقیم وجود دارد و با کاهش رطوبت خاک، محتوای نسبی آب برگ نیز کاهش پیدا می‌کند. نتایج این پژوهش با نتایج مطالعه Mahdavia *et al.* (2019) روی گیاه ریحان همخوانی دارد. به‌نظر می‌رسد کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش جذب آب توسط ریشه گیاهان می‌توانند در افزایش محتوای رطوبت نسبی گیاه نقش مؤثری داشته باشد. به‌طور کلی، تلقیح گیاه با کودهای زیستی از طریق گسترش ریشه‌ها و افزایش جذب آب و عناصر غذایی می‌تواند موجب افزایش محتوای نسبی آب گیاه شود (Mahdavia *et al.*, 2019; Zafar-ul-Hye *et al.*, 2021).

جدول ۳. تجزیه واریانس مقادیر محتوای نسبی آب برگ، پراکسیداسیون لیپیدی غشا، شاخص پایداری غشا، غلظت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در آب و الکل گیاه سیاهدانه تحت تأثیر سطوح آبیاری و تیمارهای کودی.

میانگین مربعات						درجه	منابع تغییرات
کربوهیدرات محلول در الکل	کربوهیدرات محلول در آب	پرولین	شاخص پایداری غشا	پراکسیداسیون لیپیدی غشا	محتوای نسبی آب برگ	آزادی	
۴/۹۰ns	۱/۸۱ns	۰/۳۲۰ns	۱۴/۴ns	۰/۰۷ns	۱۶/۷ns	۳	تکرار
۱۳۸۴/۰۳***	۶۸۱/۵۳*	۳۷/۹۷۶**	۲۱۴۲/۶**	۳/۰۰**	۶۱۲/۸*	۱	آبیاری
۷/۰۵	۶/۵۵	۰/۱۰۱	۱۲/۷	۰/۰۴	۳۲/۵	۳	خطا (a)
۱۴۴/۳۹***	۳۲/۶۴**	۳/۹۱۳**	۱۱۶/۹*	۰/۱۹**	۵۹/۷*	۴	کود
۴/۳۹ns	۷/۶۸ns	۰/۵۹۰**	۱۹/۹ns	۰/۱۱ns	۴۳/۳*	۴	آبیاری × کود
۱۰/۲۷	۳/۴۶	۰/۱۳۶	۳۵/۴	۰/۰۴	۱۶/۵	۲۴	خطا (b)
۸/۴۵	۹/۵۶	۶/۶۴	۷/۵۱	۶/۹۰	۵/۳۵	-	ضریب تغییرات (%)

ns و * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.



شکل ۱. اثر متقابل سطوح کودی (بدون کود یا شاهد، ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، تلفیقی ۱: ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، تلفیقی ۲: ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و تلفیقی ۳: ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی) و سطوح آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ سیاهدانه. میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد هستند. میله‌های عمودی ± اشتباه معیار میانگین (n=۳) می‌باشد.

۲.۳. پراکسیداسیون لیپیدی غشا

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثرات اصلی سطوح آبیاری و کودی بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین تیمارهای آبیاری افزایش ۲۰/۸۵ درصدی پراکسیداسیون لیپیدی غشا در تیمار آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه نسبت به آبیاری کامل را نشان داد (جدول ۴). براساس نتایج مقایسه میانگین تیمارهای کودی این پژوهش، بیش‌ترین میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشا (۳/۱۸) نانو مول در گرم وزن‌تر برگ) مربوط به عدم مصرف کود و کم‌ترین مقدار (۲/۸۲) نانومول در گرم وزن‌تر برگ) مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی بود که با سایر تیمارهای مصرف کود تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴).

جدول ۴. اثر سطوح آبیاری و تیمارهای کودی بر پراکسیداسیون لیپیدی غشا، میزان پایداری غشای سلولی، کربوهیدرات‌های محلول در آب و الکل و عملکرد دانه گیاه سیاهدانه.

عامل آزمایشی	پراکسیداسیون لیپیدی (nmol g ⁻¹ FW)	پایداری غشاء سلولی (%)	کربوهیدرات‌های محلول در آب (mg g ⁻¹ DW)	کربوهیدرات‌های محلول در الکل (mg g ⁻¹ DW)	عملکرد دانه (kg ha ⁻¹)
سطوح آبیاری					
آبیاری کامل	۲/۶۳۳b	۸۶/۴۸a	۱۵/۳۱b	۳۲/۰۳b	۸۲۹/۲۰a
۷۰٪ نیاز آبی گیاه	۳/۱۸۲a	۷۱/۸۴b	۲۳/۵۷a	۴۳/۸۰a	۶۰۵/۲۳b
تیمارهای کودی					
بدون کود یا شاهد	۳/۱۸۳a	۷۲/۴۵b	۱۶/۲۲c	۳۱/۱۵۰c	۵۸۱/۷۰c
۱۰۰٪ کودشیمیایی	۲/۸۲۰b	۸۱/۱۱a	۲۰/۰۵ab	۳۹/۴۶ab	۷۴۲/۱۵b
تلفیقی ۱	۲/۸۲۸b	۸۱/۹۱a	۲۰/۷۰ab	۴۰/۳۶a	۷۵۲/۸۸ab
تلفیقی ۲	۲/۸۴۳b	۸۰/۲۶a	۲۱/۳۵a	۴۱/۹۶a	۷۹۸/۱۸a
تلفیقی ۳	۲/۸۶۴b	۸۰/۰۸a	۱۸/۸۸b	۳۶/۶۳b	۷۱۱/۱۸b

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند. تلفیقی ۱: ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، تلفیقی ۲: ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و تلفیقی ۳: ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی به‌عنوان شاخص زیستی از تأثیر تغییرات محیطی بر سلول‌های گیاهی به‌کار می‌رود. مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشا است که بر اثر آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشا ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن میزان تولید و تجمع آن در گیاه افزایش می‌یابد (Song *et al.*, 2016). افزایش مالون‌دی‌آلدئید ناشی از ضعف در سیستم دفاعی گیاه و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت است و حاکی از اکسیداسیون و تجزیه چربی‌ها در غشاهای سلولی و در نهایت خسارت به بافت‌ها و سلول‌های گیاهی است (Pandey *et al.*, 2016). در هنگام تنش خشکی، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به آسیب بافت‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و غلظت نشانگرهای زیستی همانند مالون‌دی‌آلدئید، دی‌تیروزین و دی‌هیدروکسی‌گوآنوزین افزایش می‌یابد (Pandey *et al.*, 2016). نتایج مطالعات قبلی نشان‌دهنده آن است که کاربرد کود زیستی در هنگام وقوع تنش خشکی به‌ویژه در مرحله زایشی توانست مقدار تجمع مالون‌دی‌آلدئید را بدون استفاده از کود شیمیایی کاهش دهد، بنابراین کاربرد کود زیستی تحت چنین شرایطی می‌تواند میزان خسارت ناشی از تنش را با کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا کاهش دهد. براساس این نتایج، کودهای زیستی اثر تنش خشکی را از طریق مکانیسم دفاعی دیگری به‌غیر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهند که از بالا رفتن حجم مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کرده است. گزارش شده است که اسمولیت‌ها مانند پرولین نقش مهمی را در تنظیم اسمزی ایفا می‌کنند و هم‌چنین از طریق جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن از سلول‌های گیاه

محافظت می‌کنند (Rehman et al., 2021). به‌نظر می‌رسد کودهای زیستی با افزایش کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و رطوبت نسبی آب برگ منجر به کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولیدشده در شرایط تنش می‌شوند و در نتیجه میزان تولید مالون‌دی‌آلدهید و تخریب لیپیدها را کاهش داده و باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌شوند.

۳.۳. شاخص پایداری غشا

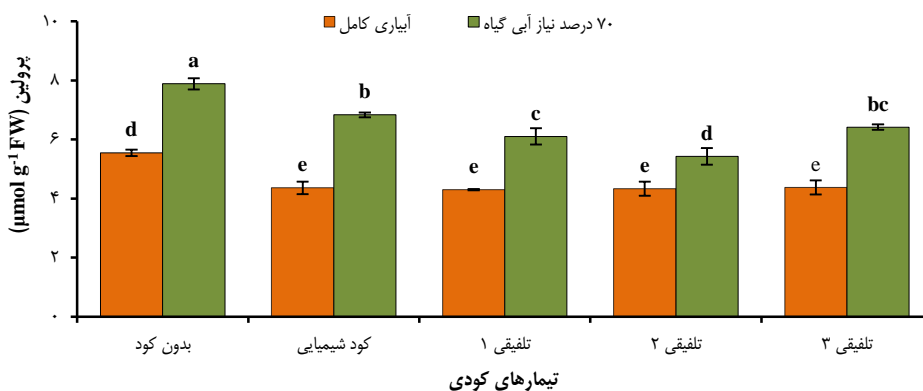
اثر سطوح آبیاری در سطح احتمال یک درصد و تأثیر سطوح کودی در سطح احتمال پنج درصد بر شاخص پایداری غشای سلولی معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین تیمارهای آبیاری کاهش ۱۶/۹۲ درصدی پایداری غشای سلولی در تیمار آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه نسبت به آبیاری کامل را نشان داد (جدول ۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای کودی نیز نشان داد (جدول ۴)، بیش‌ترین پایداری غشای سلولی (۸۱/۹۱ درصد) مربوط به تیمار کاربرد هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی بود که با سایر سطوح مصرف کود تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج بیانگر آن بود که مصرف هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، مصرف ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، مصرف هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و مصرف هم‌زمان ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی به‌ترتیب سبب افزایش ۱۳/۰۵، ۱۱/۹۵، ۱۰/۷۷، ۱۰/۵۳ درصدی پایداری غشا نسبت به تیمار عدم استفاده از کود شد (جدول ۴).

بررسی پایداری غشای سلولی به‌عنوان یک شاخص فیزیولوژیک و شیوه‌ای جهت ارزیابی میزان مقاومت به خشکی، به‌طور وسیعی کاربرد دارد. تیمار تنش خشکی از تکامل دیواره سلولی ممانعت نموده و باعث نشت الکترولیت از غشای سلولی می‌شود. با توجه به آسیب‌پذیری غشای سیتوپلاسمی، محتویات سلول به بیرون تراوش می‌کند و مقدار این خسارت را می‌توان با اندازه‌گیری نشت یونی و هدایت الکتریکی تعیین نمود (Vannozzi & Larner, 2007). تنش خشکی باعث افزایش مقادیر اشکال مختلف اکسیژن فعال و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در گیاه می‌شود. از جمله خسارت‌های اکسیداتیو که بر اثر تولید گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شود، می‌توان خسارت اکسیداتیو به لیپیدها و پروتئین‌ها را نام برد. در واقع گونه‌های فعال اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدها و از بین رفتن پروتئین‌ها می‌شوند و از این طریق باعث ایجاد خسارت به غشای سلولی و کاهش شاخص پایداری غشای سلولی می‌شوند (Shabankareh et al., 2021; Mamnabi et al., 2020). گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش چشم‌گیر در شاخص پایداری غشای سلولی شد. آن‌ها بیان داشتند که کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی باعث ثبات بیش‌تر در غشا و افزایش شاخص پایداری غشای سلولی گیاهان پرورش‌یافته تحت شرایط تنش خشکی در مقایسه با تیمار عدم مصرف کود و کاربرد کود شیمیایی به‌تنهایی شد. با مصرف کودهای زیستی، میزان محتوای آب نسبی برگ‌ها افزایش پیدا می‌کند و فشار درون سلولی برای رشد سلول مهیا می‌شود و در نهایت امکان اتساع دیواره سلولی و افزایش پایداری غشای سلول فراهم می‌شود (Shabankareh et al., 2017).

۴.۳. غلظت پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن بود که غلظت پرولین در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر کاربرد کود، آبیاری و اثر متقابل این دو فاکتور قرار گرفت (جدول ۳). تیمار عدم کاربرد کود تحت آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه بیش‌ترین مقدار (۷/۸۸ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) و کاربرد هم‌زمان ۸۰ درصد کود شیمیایی + کودهای زیستی تحت شرایط آبیاری کامل کم‌ترین میزان پرولین (۴/۳ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) را به خود اختصاص دادند. اعمال تیمارهای مختلف کودی در شرایط آبیاری ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه نشان داد، کاربرد هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای

زیستی، کاربرد هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + زیستی، کاربرد هم‌زمان ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب باعث کاهش ۳۱/۱۷، ۲۲/۶۲، ۱۸/۶۳، ۱۳/۳۵ درصدی پرولین نسبت به تیمار بدون مصرف کود شد (شکل ۲).



شکل ۲. اثر متقابل سطوح کودی (بدون کود یا شاهد، ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، تلفیقی ۱: ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، تلفیقی ۲: ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و تلفیقی ۳: ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی) و سطوح آبیاری بر غلظت پرولین گیاه سیاهدانه. میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد هستند. میله‌های عمودی \pm اشتباه معیار میانگین ($n=3$) می‌باشد.

پرولین اسیدآمینهای است که بخش عمده بسیاری از پروتئین‌های درگیر در تنظیم اسمزی، دیواره سلولی و غشا را تشکیل می‌دهد. در شرایط تنش خشکی، پرولین در حفظ پتانسیل اسمزی، حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، حفاظت ماکرومولکول‌ها از دنا توره‌شدن و تنظیم pH سلولی نقش دارد. همچنین پرولین به‌عنوان منبع نیتروژن و کربن برای گیاهان تحت تنش شدید عمل می‌کند و تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش می‌دهد (Rehman *et al.*, 2021; Zafar-ul-Hye *et al.*, 2021). گیاهانی که تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند فشار تورژسانس سلول‌های خود را حفظ نمایند. تجمع پرولین در شرایط تنش، نقش حمایتی و حفاظتی اساسی از سلول‌ها و بافت‌ها داشته و سبب تحمل و مقاومت به تنش‌های محیطی می‌شود (Rehman *et al.*, 2021). در بیان علت کاهش تجمع پرولین در گیاه سیاهدانه در نتیجه کاربرد هم‌زمان کودهای زیستی و شیمیایی می‌توان اظهار داشت که شاید تأمین مناسب عناصر غذایی موردنیاز گیاه از طریق استفاده هم‌زمان از کودهای زیستی و شیمیایی از یک طرف و همچنین اثرات مفیدی که میکروارگانیسم‌های موجود در کودهای زیستی فسفات‌ها، بارور ۲ شامل سودوموناس پوتیدا و پانتوا آگلومرانس روی گیاه گذاشته‌اند، در مجموع سبب شده است که اثر تنش خشکی روی گیاه و به‌دنبال آن، میزان تجمع پرولین نیز در گیاه کاهش یابد. باکتری‌های موجود در کودهای زیستی، علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر پر مصرف و ریزمغذی موردنیاز گیاه، ترشح اسیدهای آمینه و انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و تولید سیدروفور را نیز برعهده دارند (Akhtar & Siddiqui, 2009). در ضمن باکتری‌های هم‌زیست، باعث افزایش سطح جذب ریشه گیاه می‌شوند که به میزان کم می‌کند تا میزان آب بیشتری از خاک جذب نماید. علاوه بر این، در شرایط تنش خشکی که تحرک عناصر غذایی در خاک پایین است این باکتری‌ها باعث افزایش جذب این عناصر غذایی توسط گیاه می‌شوند (Mamnabi *et al.*, 2020).

۳.۵. کربوهیدرات‌های محلول در آب

اثرات جداگانه سطوح آبیاری و تیمارهای کودی در سطح احتمال یک درصد بر کربوهیدرات‌های محلول در آب معنی‌دار بودند (جدول ۳). تحت شرایط آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب نسبت به شرایط آبیاری کامل معادل ۵۳/۹۵ درصد افزایش نشان داد. بررسی اعمال تیمارهای مختلف کودی نشان داد که کاربرد هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، کاربرد هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، مصرف ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی و کاربرد هم‌زمان ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب سبب افزایش ۳۱/۶۲، ۲۷/۶۲، ۲۳/۶۱، ۱۶/۳۹ درصدی کربوهیدرات‌های محلول در آب نسبت به تیمار عدم مصرف کود شد (جدول ۴).

به‌نظر می‌رسد تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ در شرایط تنش خشکی به‌دلیل نیاز به آن‌ها جهت تنظیم فشار اسمزی برگ و پایداری غشای سلولی باشد. اگرچه این وقایع به‌گونه گیاهی، مدت زمان تنش، مرحله رشدی اعمال تنش و شدت تنش بستگی دارد (Dekankova et al., 2004; Bahramzadeh Ali Abad, 2013). نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Dekankova et al. (2004) و Mamnabi et al. (2020) مبنی بر افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در برگ در شرایط تنش خشکی، مطابقت دارد. در بیان دلیل افزایش کربوهیدرات‌ها در اثر کاربرد کودهای زیستی، می‌توان به اثر مثبت کودهای زیستی بر متابولیسم قند و در نتیجه آن، افزایش رشد گیاه اشاره کرد (Mamnabi et al., 2020). هم‌چنین با توجه به تحقیقات انجام شده، افزایش میزان کربوهیدرات‌ها ممکن است به‌علت افزایش میزان کلروفیل و در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها باشد (Sridhar & Rengasamy, 2010).

۳.۶. کربوهیدرات‌های محلول در الکل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثرات جداگانه سطوح آبیاری و سطوح کودی در سطح احتمال یک درصد بر کربوهیدرات‌های محلول در الکل معنی‌دار بود (جدول ۳). آبیاری گیاه به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی باعث افزایش ۳۶/۷۴ درصدی کربوهیدرات‌های محلول در الکل نسبت به آبیاری کامل شد. در مقایسه سطوح کودی، بیش‌ترین کربوهیدرات‌های محلول در الکل (۴۱/۹۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) کاربرد هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی به خود اختصاص داد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار کاربرد هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و مصرف ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی نداشت. اعمال تیمارهای مختلف کودی نشان داد که مصرف هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، مصرف هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، مصرف ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی و مصرف هم‌زمان ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی به‌طور قابل‌توجهی به‌ترتیب موجب افزایش ۳۴/۷۰، ۲۹/۵۶، ۲۶/۶۷، ۱۷/۵۶ درصدی کربوهیدرات‌های محلول در الکل نسبت به تیمار عدم مصرف کود شد (جدول ۴).

در همین رابطه Bahramzadeh Ali Abad (2013) در مطالعه واکنش گیاه دارویی زیره سبز تحت تنش خشکی نشان داد، بیش‌ترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول مربوط به تنش شدید بود. او دریافت که اگر کربوهیدرات‌های محلول از نوع مونوساکارید یا دی‌ساکارید باشند، این موضوع دلیلی بر این است که قندها نقش مهمی در تنظیم اسمزی در گیاهان دارند. Kabiri et al. (2014) نیز افزایش کربوهیدرات‌های محلول در برگ گیاه سیاهدانه را بر اثر تنش خشکی گزارش کردند. هم‌چنین نتایج پژوهش حاضر نشانگر تأثیر مثبت کودهای شیمیایی و زیستی بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در الکل گیاه سیاهدانه می‌باشد. این نتیجه در پژوهش‌های Gendy et al. (2012) روی گیاه چای‌ترش نیز گزارش شده است.

۷.۳. پروتئین‌های محلول برگ

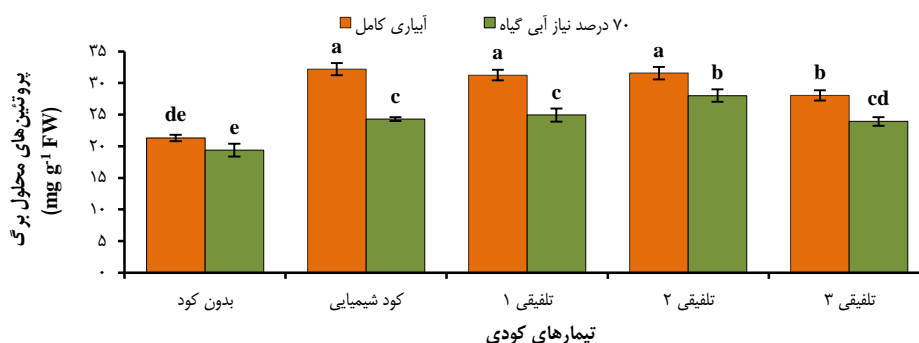
بین سطوح آبیاری و هم‌چنین تیمارهای کودی به لحاظ میزان پروتئین‌های محلول برگ گیاه سیاهدانه اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. هم‌چنین اثر متقابل سطوح آبیاری و کود بر صفت مذکور در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیش‌ترین میزان پروتئین‌های محلول برگ (۳۲/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در شرایط آبیاری کامل و مصرف ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار کاربرد هم‌زمان ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و کاربرد هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی تحت شرایط آبیاری کامل نداشت. به‌طورکلی در شرایط تنش خشکی، مقدار پروتئین‌های محلول برگ به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد، به‌طوری‌که کم‌ترین مقادیر این صفت در تمامی تیمارهای کودی به گیاهان تحت شرایط آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه تعلق داشت (شکل ۳).

تنش کم‌آبی با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه می‌شود. کاهش پتانسیل آب در برگ‌های ذرت، موجب نقصان قابل‌توجهی در پلی‌ریبوزوم‌ها و مونوریبوزوم‌ها می‌شود که این مسئله بازگوکننده کاهش سنتز پروتئین‌ها می‌باشد. هم‌چنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین‌ها داشته و سبب اکسیدشدن آن‌ها می‌شوند و به‌طورکلی، کم‌آبی سبب کاهش میزان پروتئین گیاه و بروز تغییرات متابولیسمی می‌شود (Alfredo et al., 2003).

جدول ۵. تجزیه واریانس مقادیر غلظت پروتئین‌های محلول، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و عملکرد دانه گیاه سیاهدانه تحت تأثیر سطوح آبیاری و تیمارهای کودی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین‌های محلول	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	عملکرد دانه
تکرار	۳	۴/۴۲ ns	۰/۰۰۱۳ ns	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۰۳ ns	۲۹۶۷/۴ ns
آبیاری	۱	۲۲۶/۲۹**	۰/۰۷۳۹**	۰/۰۰۴۷*	۰/۱۱۶**	۵۰۱۶۳۴/۶**
خطا (a)	۳	۱/۴۵	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۳۰	۲۱۱۱/۱
کود	۴	۱۰۹/۳۳**	۰/۰۴۲۱**	۰/۰۰۵۹**	۰/۰۸۰**	۵۳۷۰/۱۳**
آبیاری × کود	۴	۱۰/۹۹*	۰/۰۰۴۷**	۰/۰۰۰۶*	۰/۰۰۹**	۲۴۸۱/۶ ns
خطا (b)	۲۴	۳/۶۹	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱	۲۶۱۶/۶
ضریب تغییرات (%)	-	۷/۲۶	۴/۷۷	۵/۵۰	۴/۳۴	۷/۱۳

ns * و **: به ترتیب نشان دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.



شکل ۳. اثر متقابل سطوح کودی (بدون کود یا شاهد، ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، تلفیقی ۱: ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، تلفیقی ۲: ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و تلفیقی ۳: ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی) و سطوح آبیاری بر پروتئین‌های محلول برگ گیاه سیاهدانه. میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد هستند. میله‌های عمودی ± اشتباه معیار میانگین (n=۳) می‌باشد.

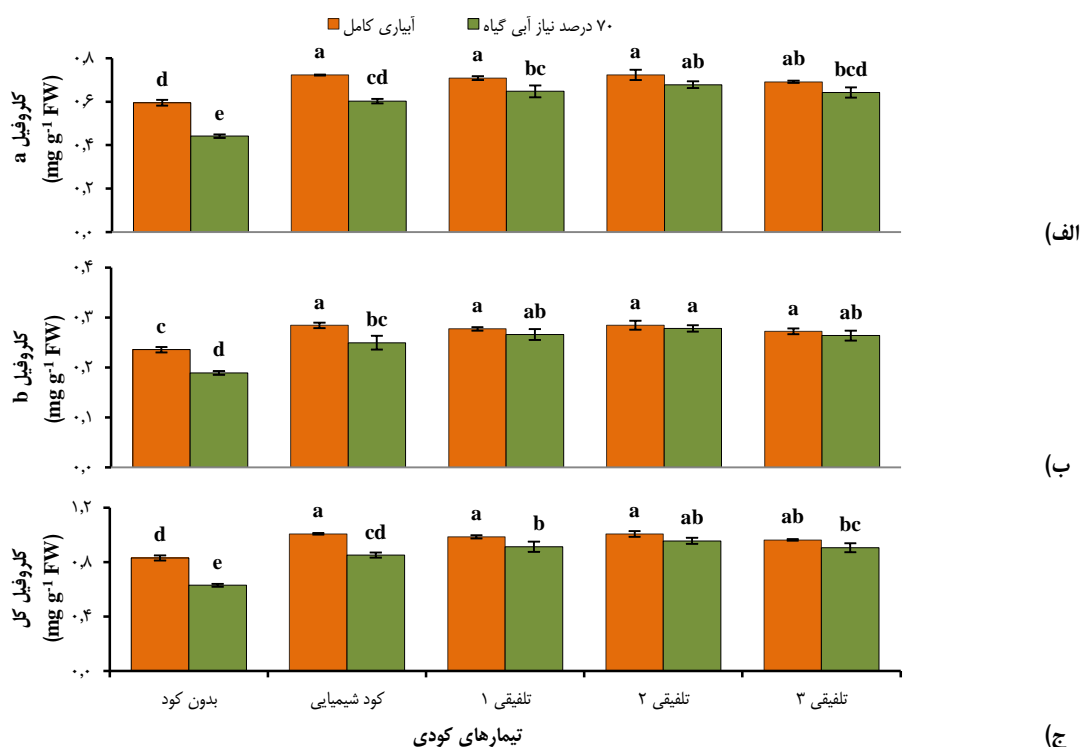
Kabiri *et al.* (2014) کاهش محتویات پروتئین محلول برگ بر اثر تنش خشکی را در گیاه سیاهدانه گزارش کردند. همان‌طوری که در شکل (۳) نشان داده شده است، مصرف کود چه در شرایط آبیاری کامل و چه در شرایط کم آبیاری باعث افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین‌های محلول گیاه نسبت به شاهد بدون مصرف کود شد که احتمالاً به دلیل تأمین نیتروژن و سایر عناصر غذایی موردنیاز جهت سنتز پروتئین‌ها باشد. در حالت کلی، بالاترین میزان تولید پروتئین‌های محلول برگ به گیاهانی تعلق داشت که در تغذیه آن‌ها از کودهای زیستی استفاده شده بود. شاید این مسئله با تثبیت نیتروژن هوا و همچنین ترشح اسیدهای آمینه توسط باکتری‌های موجود در کودهای زیستی در ارتباط باشد. نیتروژن نقشی اساسی در ساختمان کلروفیل دارد و از طرفی مهم‌ترین عنصر در سنتز پروتئین‌ها می‌باشد و افزایش آن در شرایط مطلوب تا حد مشخصی، موجب افزایش میزان پروتئین می‌شود (Bahramzadeh Ali Abad, 2013; Zafar-ul-Hye *et al.*, 2021).

۳.۸. غلظت کلروفیل

اثر ساده سطوح آبیاری و سطوح کودی و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل معنی‌دار شد. همچنین تأثیر سطوح کودی در سطح احتمال یک درصد، اثر سطوح آبیاری در سطح احتمال پنج درصد و برهم‌کنش سطوح آبیاری و کود در سطح احتمال پنج درصد بر غلظت کلروفیل b معنی‌دار شد (جدول ۳). آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه باعث کاهش غلظت کلروفیل برگ در تمام سطوح کودی در مقایسه با آبیاری کامل شد، با این وجود مصرف کود زیستی (تیمارهای تلفیقی ۱، ۲ و ۳) باعث شد که تغییرات غلظت کلروفیل بر اثر کاهش آب در دسترس در مقایسه با عدم مصرف کود زیستی بسیار کم‌تر باشد. کم‌ترین محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل برگ در شرایط آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه و عدم مصرف کود به ترتیب به میزان ۰/۴۴۲، ۰/۱۸۹ و ۰/۶۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مشاهده شد. در این مطالعه به‌طور کلی کاربرد کود موجب بهبود و افزایش غلظت کلروفیل در مقایسه با شاهد بدون کود شد و این امر، هم در شرایط آبیاری کامل و هم در شرایط آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه دیده شد. در مقایسه سطوح مختلف کودی مشاهده شد که بالاترین مقدار کلروفیل کل به گیاهان تحت تیمار کودهای شیمیایی+ کودهای زیستی تعلق داشت (شکل ۴).

در شرایط تنش خشکی محتویات کلروفیل برگ به دلایلی از جمله اختلال در فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش ساخت و افزایش تخریب رنگیزه‌ها کاهش پیدا می‌کند. افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیل‌از باعث کاهش محتوای کلروفیل می‌شود تحت شرایط تنش خشکی بیان این آنزیم القا می‌شود. از عوامل دیگر دخیل در کاهش محتوای کلروفیل می‌توان افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش اکسیداتیو به‌عنوان تنش ثانویه اشاره کرد (Shin *et al.*, 2021). Kabiri *et al.* (2014) نیز کاهش غلظت کلروفیل برگ در گیاه سیاهدانه را بر اثر تنش خشکی گزارش کردند. تنش کمبود آب باعث کاهش جذب نیتروژن توسط گیاه و به‌دنبال آن کاهش محتوای کلروفیل برگ، زردشدن (کلروزشدن)، کاهش فعالیت فتوسنتزی گیاه، کاهش رشد و در نهایت پیری زودرس می‌شود (Mamnabi *et al.*, 2020; Zafar-ul-Hye *et al.*, 2021). به‌دلیل ارتباط تنگاتنگ غلظت کلروفیل و محتوای نیتروژن برگ و همچنین به‌دلیل این‌که نیتروژن در ساخت کلروفیل نقش مستقیم دارد (Mamnabi *et al.*, 2020)، کود نیتروژن از طریق تأمین نیتروژن موردنیاز گیاه باعث بهبود میزان کلروفیل برگ شد. در تیمار کود شیمیایی به‌کار گرفته‌شده در این پژوهش، مصرف کود نیتروژنه کافی و در تیمارهای ترکیبی در برگیرنده کودهای زیستی، تأمین مناسب، کافی و تدریجی نیتروژن هم از طریق استفاده از کود نیتروژن و هم به واسطه حضور باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در کود

زیستی باعث شد که گیاه نیتروژن کافی جهت تولید کلروفیل در اختیار داشته باشد. بنابراین، در این شرایط افزایش کلروفیل دور از انتظار نخواهد بود. Mahdavikia *et al.* (2019) نشان دادند که به‌کارگیری کود به‌ویژه تلفیق کودهای شیمیایی و زیستی باعث افزایش محتوای کلروفیل برگ در گیاه ریحان تحت شرایط تنش خشکی شد.



شکل ۴. اثر متقابل سطوح کودی (بدون کود یا شاهد، ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی، تلفیقی ۱: ۸۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی، تلفیقی ۲: ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی و تلفیقی ۳: ۴۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی) و سطوح آبیاری بر غلظت کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب) و کلروفیل کل (ج) کلروفیل کل گیاه سیاهدانه. میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد هستند. میله‌های عمودی \pm اشتباه معیار میانگین ($n=3$) می‌باشد.

۹.۳. عملکرد دانه

عملکرد دانه تحت تأثیر سطوح آبیاری و تیمارهای کودی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۵). تحت شرایط آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه، عملکرد دانه معادل ۲۷/۰۱ نسبت به شرایط آبیاری کامل کاهش یافت (جدول ۴). در واقع، تنش کمبود آب با کاهش مقادیر صفات محتوای رطوبت نسبی (شکل ۱)، پایداری غشای سلولی (جدول ۴)، غلظت کلروفیل (شکل ۴) و افزایش میزان تجمع اسمولیت‌های سازگار (جدول ۴) به‌منظور مقابله با تنش کمبود آب در نهایت میزان عملکرد در واحد سطح را کاهش داد. کاهش عملکرد ناشی از تنش خشکی می‌تواند به‌دلیل کاهش سطح فتوسنتزکننده و افزایش انرژی مصرفی گیاه جهت جذب و بالابردن غلظت شیره سلولی باشد (Akhtar & Siddiqui, 2009; Bahramzadeh Ali Abad, 2013; Mamnabi *et al.*, 2020). علت بالاتر بودن عملکرد دانه در شرایط آبیاری کامل نسبت به ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه احتمالاً وجود آب کافی در خاک می‌باشد که باعث شد گیاه به‌خوبی بتواند آب و مواد غذایی موردنیاز خود را جذب نماید و از رشد مطلوبی برخوردار باشد.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین مربوط به سطوح تیمارهای کودی، مشخص شد که بیش‌ترین عملکرد دانه به میزان ۷۹۸/۱۸ کیلوگرم در هکتار به گیاهان تحت تیمار هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کود زیستی تعلق گرفت (جدول ۴). از علل افزایش عملکرد دانه در شرایط کاربرد هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کود زیستی بالاتر بودن محتوای نسبی آب برگ (شکل ۱) پایداری غشای سلولی (جدول ۵) و غلظت کلروفیل برگ (شکل ۴) در این شرایط بود که موجب بهبود رشد گیاه شد و در نهایت، عملکرد دانه را افزایش داد. *Khorrandel et al.* (2016) در مطالعه خود نشان دادند که کاربرد کودهای زیستی (آزوسپیریلیوم و ازتوباکتر) باعث افزایش عملکرد دانه گیاه سیاهدانه شد. آن‌ها اظهار داشتند تلقیح با کودهای زیستی باعث توسعه ریشه، افزایش دسترسی به رطوبت و عناصر غذایی و افزایش تجمع ماده خشک در گیاه شد. تجمع مواد آلی توسط باکتری‌های موجود در کودهای زیستی در خاک باعث افزایش توسعه ریشه و دسترسی بیش‌تر به عناصر غذایی شد، به طوری که این شرایط موجب افزایش سطح برگ، کلروفیل، تجمع ماده خشک و در نهایت، افزایش عملکرد دانه شد (*Mamnabi et al., 2020; Moradzadeh et al., 2021; Zafar-ul-Hye et al., 2021*). به نظر می‌رسد تنش کم‌آبی و عدم تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه توسط منابع کودی بیش‌ترین تأثیر را در کاهش عملکرد دانه داشته است. نیتروژن با تأثیری که بر رشد و توسعه اندام‌هایی رویشی از طریق سنتز پروتئین‌ها، گسترش سطح برگ‌ها و نیز دوام اندام‌های فتوسنتزکننده دارد می‌تواند در افزایش عملکرد دانه در گیاهان نقش مؤثری داشته باشد (*Bahramzadeh Ali Abad, 2013; Khorrandel et al., 2016; Mamnabi et al., 2020*). هم‌چنین گزارش شده است، مصرف باکتری‌های حل‌کننده فسفات موجب افزایش چشم‌گیر عملکرد دانه در گیاه دارویی سیاهدانه می‌شود (*Shaalán, 2005*).

۴. نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن بود که کاهش آب در دسترس گیاه سیاهدانه سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ، میزان پایداری غشای سلولی، میزان پروتئین‌های محلول برگ، محتوای کلروفیل برگ، عملکرد دانه و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی غشا، محتوای پرولین، میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و الکل، نسبت به آبیاری کامل شد. آبیاری به میزان ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه باعث کاهش عملکرد دانه به میزان ۲۷ درصد نسبت به آبیاری کامل شد. نتایج نشان داد تلقیح کودهای شیمیایی و زیستی اثرات مثبتی بر پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه داشت. نتایج گویای افزایش ۷/۵ درصدی عملکرد دانه با کاربرد هم‌زمان ۶۰ درصد کودهای شیمیایی + کودهای زیستی نسبت به مصرف ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی بود. به‌طور کلی می‌توان بیان داشت که کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی به‌صورت تلفیقی توانست اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در گیاه را تا حدود زیادی کاهش دهد و این اثرات را به واسطه افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول و بهبود روابط آبی گیاه تعدیل نماید. لذا می‌توان چنین استنباط نمود که با توجه به اثرات مثبتی که کودهای زیستی بر پاسخ‌های فیزیولوژیک و در نهایت عملکرد دانه سیاهدانه به‌ویژه تحت شرایط کمبود آب داشت، هم‌چنین نظر بر لزوم توجه به سیستم کشاورزی پایدار و با عنایت به ضرورت تولید گیاهان دارویی در نظام‌های زراعی و اهمیت توجه به کشت این گیاهان در نظام‌های کم‌نهاد به‌نظر می‌رسد کودهای زیستی می‌توانند جایگزین مناسبی برای مصرف بخشی از کودهای شیمیایی در تولید این گیاهان همچون سیاهدانه باشند.

۵. تشکر و قدردانی

از حمایت مالی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع مورد استفاده

- Abdel-Aziez, S.M., Eweda, W. E., Girgis, M. G. Z., & Abdel Ghany, B. F. (2014). Improving the productivity and quality of black cumin (*Nigella sativa* L.) by using Azotobacter as N2 bio fertilizer. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 95–108.
- Akhtar, M.S., & Siddiqui, Z.A. (2009). Effects of phosphate solubilizing microorganisms and Rhizobium sp on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition. *African Journal Biotechnology*, 8(15), 3489-3496.
- Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A., & Meddich, A. (2020). Biofertilizers as strategies to improve photosynthetic apparatus, growth, and drought stress tolerance in the date palm. *Frontiers in plant science*, 11(516818), 1-21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.516818>
- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23(1), 112-121.
- Bahramzadeh Ali Abad, A. (2013). *Effects of manures and chemical fertilizers and their interaction on qualitative and quantitative characteristics of cumin (Cuminum cyminum) under drought stress*. MSc thesis Thesis in Agronomy, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran. 117 P. (In Persian).
- Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Journal of Analytical Biochemistry*, 72(2), 248-254.
- Chegini, M.A., Rezaeirad, B., & Ghalebi, S. (2010). Determination of crop transpiration coefficient (Kc) at various growth stages of sugarbeet. *Plant Ecophysiology (Jiroft Branch)*, 2, 31-36.
- Dekankova, K., Luxova, M., Gasparikova, O., & Kolarovic, L. (2004). Response Of maize plants to water stress. *Biologia*, 13, 151-155.
- Gendy, A.S.H., Said-Al Ahl, H.A.H., & Mahmoud, A.A. (2012). Growth, productivity and chemical constituents of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plants as influenced by cattle manure and biofertilizers treatments. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(5), 1-12.
- Heath, R.L., & Parker, L. (1969). Photo peroxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochemical Biophysics*, 125(1), 189-198.
- Hosseinfard M, Stefaniak S, Ghorbani Javid M, Soltani E, Wojtyla Ł, Garnczarska M.(2022). Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186. <https://doi.org/10.3390/ijms23095186>
- Kabiri, R., Nasibi, F., & Farahbakhsh, H. (2014). Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in (*Nigella sativa* L.) plant under hydroponic culture. *Plant Protection Science*, 50(1), 43-51.
- Kashyap, P.S., & Panda, R.K. (2001). Evaluation of evapotranspiration estimation methods and development of crop-coefficients for potato crop in a sub-humid region. *Agricultural Water Management*, 50(1), 9-25.
- Khan, S., Bano, A., Ud-din, J., & Gurmani, A. (2012). Abscisic acid and salicylic acid seed treatment as potent inducer of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 44, 43-49.

- Khorramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M., & Ghorbani, R. (2016). Evaluation of inoculation with nitrogen and phosphorus biofertilizers on yield and radiation use efficiency of black cumin (*Nigella sativa* L.) under Mashhad climatic conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 39(14), 2015-2024.
- Liu, H.P., Yu, B.J., Zhang, W.H., & Liu, Y.L. (2005). Effect of osmotic stress on the activity of Ht ATPase and the levels of covalently and non-covalently conjugated polyamines in plasma membrane preparation from wheat seeding roots. *Plant Sciences*, 168(6), 1599-1607.
- Mahdavia, H., Rezaei-Chiyaneh, E., Rahimi, A., & Mohammadkhani, N. (2019). Effects of fertilizer treatments on antioxidant activities and physiological traits of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water limitation conditions. *Journal of Medicinal Plants and By-product*, 8(2), 143-151.
- Mathur, P., & Roy, S. (2021). Insights into the plant responses to drought and decoding the potential of root associated microbiome for inducing drought tolerance. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1016-1029.
- Mamnabi, S., Nasrollahzadeh, S., Ghassemi-Golezani, K., & Raei, Y. (2020). Improving yield-related physiological characteristics of spring rapeseed by integrated fertilizer management under water deficit conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(3), 797-804.
- Moradzadeh, S., Moghaddam, S.S., Rahimi, A., Pourakbar, L., & Sayyed, R.Z. (2021). Combined bio-chemical fertilizers ameliorate agro-biochemical attributes of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Scientific Reports*, 11(1), 1-16.
- Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M.Y., Waraich, E.A., & Khan, S.Z. (2015). Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 191-200.
- Omidbeygi, R. (2007). *Production and processing of medicinal plants*. Astane Qhodse Razavi Publications, Mashhad, Iran, 348 P. (In Persian).
- Pandey, S., Verma, A., & Chakraborty, D. (2016). Potential use of rhizobacteria as biofertilizer and its role in increasing tolerance to drought stress. pp. 115-140. In: Bikas, R.P. & M.M. Santi (Eds). *Recent trends in biofertilizers*. IK International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi.
- Rehman, A.U., Bashir, F., Ayaydin, F., Kóta, Z., Páli, T., & Vass, I. (2021). Proline is a quencher of singlet oxygen and superoxide both in in vitro systems and isolated thylakoids. *Physiologia Plantarum*, 172(1), 7-18.
- Rezaei-Chiyaneh, E., Seyyedi, S.M., Ebrahimian, E., Moghaddam, S.S., & Damalas, C.A. (2018). Exogenous application of gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates the effect of water deficit stress in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Industrial Crops and Products*, 112, 741-748.
- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., & Holaday, A.S. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1), 105-111.
- Sepaskhah, A.R., & Khajehabdollahi, M.H. (2005). Alternative furrow irrigation with different irrigation intervals for maize (*Zea mays* L.). *Plant Production Science*, 8(5), 592-600.
- Shalan, M.N. (2005). Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 83(2), 811-828.
- Shabankare, H.G., Fakheri, B.A., & Vashvaei, R.M. (2017). The effect of bio-fertilizers on growth, grain and essential oil yield of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under drought stress. *Agroecology*, 9(1), 50-62. (In Persian).
- Shin, Y.K., Bhandari, S.R., Jo, J.S., Song, J.W., & Lee, J.G. (2021). Effect of Drought Stress on Chlorophyll Fluorescence Parameters, Phytochemical Contents, and Antioxidant Activities in Lettuce Seedlings. *Horticulturae*, 7(8), 238-253.
- Song, X., Wang, Y., & Lv, X. (2016). Responses of plant biomass, photosynthesis and lipid peroxidation to warming and precipitation change in two dominant species (*Stipa grandis* and *Leymus chinensis*) from North China Grasslands. *Ecology and Evolution*, 6(6), 1871-1882.

- Sridhar, S., & Rengasamy, R. (2010). Studies on the effect of seaweed liquid fertilizer on the flowering plant *Tagetes erecta* in field trial. *Advances in BioResearch*, 1(2), 29-34.
- Vannozi, G., & Larner, F. (2007). Proline accumulation during drought rhizogene in maïse. *Journal of Plant Physiology*, 85, 441-467.
- Yan, W., Zhong, Y., & Shangguan, Z. (2016). A meta-analysis of leaf gas exchange and water status responses to drought. *Scientific Reports*, 6(1), 1-9.
- Yemen, E.W., & Willis, A.J. (1954). Estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Journal of Biochemistry*, 57(3), 508-514.
- Zafar-ul-Hye, M., Akbar, M. N., Iftikhar, Y., Abbas, M., Zahid, A., Fahad, S., & Danish, S. (2021). Rhizobacteria Inoculation and Caffeic Acid Alleviated Drought Stress in Lentil Plants. *Sustainability*, 13(17), 9603.
- Zarei, A.R., Zohrabi, S., & Boomeh, F. (2017). Evaluation of different growth stages of *Nigella sativa* L. and assessment of crop coefficient (Kc). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33(4), 597-607. (In Persian).