

## واکنش‌های رشدی گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa L.*) به نیتروژن و متانول تحت تنش خشکی

میلاد سلطانیه<sup>۱</sup>، داریوش طالعی<sup>۲\*</sup>، پریسا نجاتخواه<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه کشاورزی، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

\*milad.soltanieh@yahoo.com

### چکیده

هدف از این تحقیق بررسی واکنش‌های رشدی گیاه سیاه دانه به نیتروژن و متانول تحت تنش خشکی می باشد. برای این منظور آزمایشی به صورت کرت‌های دو بار خرد شده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت که در آن فاکتور آبیاری با ۴ سطح (بدون تنش، آبیاری در زمان ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی خاک) در کرت‌های اصلی، نیتروژن با ۴ سطح (شاهد، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم در هکتار) در کرت‌های فرعی و متانول با ۳ سطح (۰، ۱۰ و ۳۰ درصد) در کرت‌های فرعی فرعی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف نیتروژن و متانول تحت تنش خشکی بر اکثر شاخص‌های رشدی اثر معنی دار دارد. بطوری که با افزایش تنش خشکی شاخص سطح برگ، سرعت رشد نسبی، سرعت رشد محصول و سرعت جذب خالص کاهش یافت. نتایج نشان داد که کاربرد نیتروژن و متانول تحت تنش خشکی میزان کاهش شاخص‌های رشد را تعدیل کرد. از بررسی کلیه صفات اندازه گیری شده می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که در بین غلظت‌های نیتروژن و متانول به کار رفته، به ترتیب غلظت ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۱۰ درصد متانول بیشترین تاثیر را در کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی بر گیاه و بهبود شاخص‌های رشدی سیاه دانه را داشتند.

**کلمات کلیدی:** تنش خشکی، سیاه دانه، شاخص‌های رشدی متانول، نیتروژن

### مقدمه

گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa L.*) گیاهی است علفی و یکساله از تیره آلاله (Ranunculaceae) که در اروپا، آفریقا و آسیا کشت می‌شود. این گیاه در مناطق مختلف ایران از جمله اراک و اصفهان نیز یافت می‌شود. بذور سیاهدانه منبع غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده، پروتئین، کربوهیدرات و محتوای خاکستر است. سیاهدانه در درمان افسردگی، بیماری دیابت، نارسایی کلیه، بیماری‌های معده، سر درد و دندان درد نقش داشته و دارای اثرات آنتی بیوتیکی، ضد انگلی، ضد میکروبی و ضد سرطانی می‌باشد (۱). تنش‌های محیطی، مخصوصاً تنش خشکی بعنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و توسعه گیاه در دنیا است. عناصر غذایی از جمله نیتروژن بر تغذیه، رشد رویشی و زایشی گیاهان نقش قابل توجهی دارند و می‌توانند در عملکرد گیاهان و همچنین کمیت و کیفیت مواد موثره آن‌ها تغییراتی ایجاد کنند. نیتروژن به عنوان دومین ماده سازنده ساختار گیاهی از عناصری است که در متابولیسم گیاه نقش اساسی دارد و تولید محصولات زراعی و دارویی را بهبود می‌بخشد. نیتروژن در ساختار ترکیبات آلی مانند آمینواسیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و آنزیم‌ها وجود دارد و در ترکیب با عناصری همچون کربن، اکسیژن، هیدروژن و گوگرد بر فتوسنتز گیاهان تاثیر می‌گذارد و فعالیت آنزیم رابیسکو و میزان کلروفیل را افزایش می‌دهد، لذا در افزایش تولید ماده خشک، درصد باروری گل و عملکرد دانه نقش مهمی را ایفا می‌کند.

متانول به عنوان یک منبع کربن به آسانی از طریق لیپیدهای موجود در غشا و به صورت غیرفعال از غشاهای پروتوپلاستی عبور می‌کند و به سرعت وارد بافت‌های گیاهی می‌شود و بر متابولیسم کربن گیاه تاثیر و رشد و عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد. افزایش رشد گیاه با کاربرد متانول در گیاهان زراعی و زینتی گزارش شده است. محلول‌پاشی متانول فعالیت آنزیمی و چرخه کربن را در گیاهان، تحت تاثیر قرار می‌دهد. تحت تنش خشکی، اسپری متانول بر روی محصولات زراعی مانند پنبه و سویا، نیازهای آبی محصولات را کاهش می‌دهد و توانایی آن‌ها را برای مقابله با تنش خشکی افزایش می‌دهد (۵). با توجه به اهمیت و ارزش اقتصادی گیاه سیاه دانه در صنایع داویی و اینکه تحقیقات قابل توجهی در زمینه واکنش‌های این گیاه به تیمار سالیسیلیک اسید و متانول تحت تنش خشکی صورت نگرفته است، هدف از این تحقیق بررسی شاخص‌های رشدی گیاه سیاه دانه به تیمار سالیسیلیک اسید و متانول تحت تنش خشکی و تعیین آستانه تحمل این گیاه به تنش خشکی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

بذور سالم و عاری از علف هرز سیاه دانه از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهیه شد. بذور سیاه دانه به منظور پخش یکنواخت با ماسه بادی مخلوط شدند و در کرت‌هایی به مساحت ۱/۲ متر مربع (به ابعاد ۱×۱/۲ متر) بصورت خشکه کاری و دست‌پاش در عمق ۲-۳ سانتیمتری کشت شدند. فاصله بین کرت‌ها ۰/۵ متر و فاصله بین بلوک‌ها یک متر بود. گیاهچه‌های سیاه‌دانه در مرحله چهار برگی برای دستیابی به فاصله بوته مناسب (۲ سانتی‌متر) تنک شدند. عملیات زراعی شامل کنترل علف‌های هرز، مبارزه با آفات و بیماری‌ها در طول فصل رشد انجام گرفت.

آزمایش به صورت کرت‌های دو بار خرد شده با سه فاکتور بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۸ انجام شد که در آن تنش آبیاری (خشکی) با ۴ سطح (بدون تنش، آبیاری در زمان ۸۰ درصد ظرفیت زراعی خاک (تنش ملایم)، آبیاری در زمان ۶۰ درصد ظرفیت زراعی خاک (تنش متوسط)، آبیاری در زمان ۴۰ درصد ظرفیت زراعی خاک (تنش شدید) به عنوان فاکتور اصلی و غلظت‌های مختلف نیتروژن با ۴ سطح (شاهد، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم در هکتار) به عنوان فاکتور فرعی و غلظت‌های مختلف متانول با ۳ سطح (۰، ۱۰ و ۳۰ درصد) به عنوان فاکتور فرعی مورد بررسی قرار گرفتند. برای افزایش میزان چسبندگی محلول متانول، به هر یک از غلظت‌های متانول، مقدار دو گرم بر لیتر گلاسیسین، یک گرم بر لیتر تتراهیدروفولات به عنوان کاتالیزور و یک گرم بر لیتر توئین ۸۰ اضافه شد. بعد از پایان دوره تیمار نیتروژن، متانول و تنش خشکی در مرحله رشد کامل گیاه (قبل از گلدهی) یک متر مربع از ابعاد هر کرت بعد از حذف حاشیه انتخاب و شاخص‌های رشدی گیاه از قبیل سرعت جذب خالص (NAR)، سرعت رشد نسبی (RGR)، سرعت رشد محصول (CGR) و شاخص سطح برگ (LAI) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های رشد اولین نمونه‌برداری ۱۴ روز پس از سبز شدن گیاه از هر کرت صورت گرفت و سایر نمونه‌برداری‌ها هر ۱۴ روز یکبار (به ترتیب ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ روز پس از سبز شدن) انجام شدند. نمونه‌برداری به صورت تصادفی و با رعایت اثر حاشیه صورت گرفت. نمونه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری و CGR و RGR هر نمونه با استفاده از معادلات زیر محاسبه گردید.

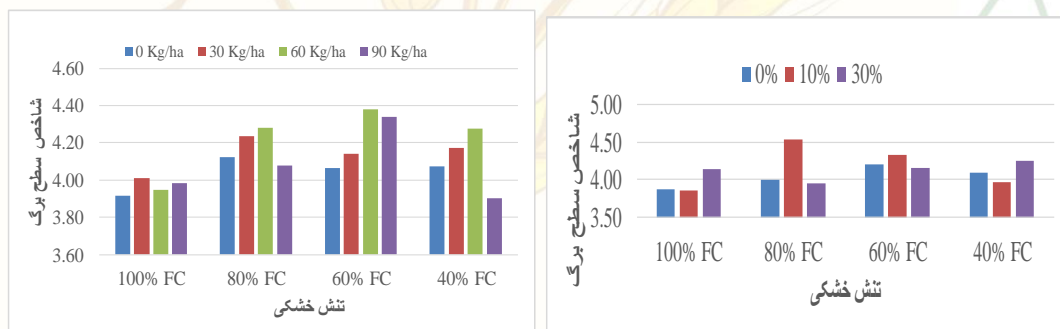
$$CGR = \frac{W2 - W1}{t2 - t1} \quad (1)$$

$$RGR = \frac{\ln W2 - \ln W1}{t2 - t1} \quad (2)$$

در معادلات فوق،  $w$  وزن خشک بوته و  $t$  زمان می‌باشد. سرعت رشد محصول (CGR) بر اساس واحد گرم بر متر مربع در روز و سرعت رشد نسبی (RGR) بر اساس واحد گرم بر گرم در متر مربع گزارش شد. برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ، در فواصل زمانی ذکر شده با قرار دادن برگ‌های هر نمونه در دستگاه سطح برگ‌سنج، سطح برگ هر نمونه به دست آمد و شاخص سطح برگ نیز از طریق تقسیم مساحت برگ‌های گیاه (برحسب مترمربع) بر مساحت زمین اشغال شده توسط گیاه محاسبه گردید که یک شاخص بدون واحد می‌باشد. سرعت جذب خالص نیز از روش تقسیم سرعت رشد محصول بر شاخص سطح برگ به دست آمد و بر اساس واحد گرم بر متر مربع در روز بیان شد.

## نتایج و بحث

شاخص سطح برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح آبیاری، غلظت‌های مختلف نیتروژن و متانول، اثرات متقابل دوگانه و اثرات متقابل سه‌گانه شاخص سطح برگ، سرعت رشد محصول، سرعت رشد نسبی و سرعت جذب خالص را در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر قرار دادند. مقایسات میانگین شاخص سطح برگ نشان داد که با افزایش تنش خشکی شاخص سطح برگ نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. کاربرد نیتروژن باعث افزایش شاخص سطح برگ گیاه سیاه‌دانه شد و بیشترین افزایش با ۴/۴ درصد مربوط به سطح ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بود. محلول پاشی متانول باعث افزایش شاخص سطح برگ نسبت به شاهد شد و بیشترین افزایش شاخص سطح برگ مربوط به سطح متانول ۱۰ درصد با میانگین ۴/۱۷ بود. نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری و نیتروژن نشان داد که بیشترین شاخص سطح برگ (۴/۳۸) با کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در تنش متوسط بدست آمد (شکل ۱). نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری و متانول نشان داد که بیشترین شاخص سطح برگ (۴/۵۳) در محلول پاشی ۱۰٪ متانول تحت تنش ملایم شد (شکل ۱).

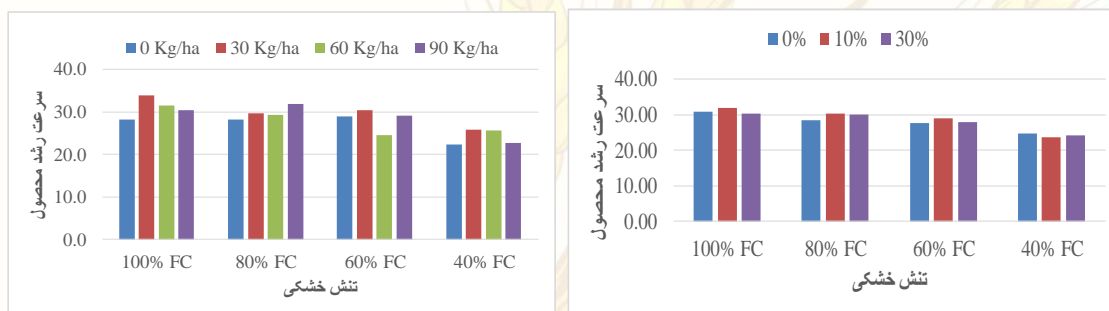


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و نیتروژن و اثر متقابل آبیاری و متانول روی شاخص سطح برگ

کاهش سطح برگ در گیاه، یک تکنیک برای بهبود تحمل به خشکی است و این کاهش به علت کاهش محتوای نسبی آب و در پی آن کوچک شدن اندازه سلول‌ها، کاهش تقسیم سلول‌های مریستمی و در نتیجه کند شدن رشد برگ، توقف تولید برگ، تسریع پیری و به دنبال آن ریزش برگ‌ها می‌باشد. کاهش شاخص سطح برگ در تحقیقات دیگر بر روی گیاهانی مثل لوبیا و ماش و آفتابگردا نیز گزارش شده است (۳) که نتایج این تحقیق با تحقیقات فوق مطابقت دارد. متانول با تنظیم سنتز هورمون‌هایی مثل اکسین و جیبرلین، به منظور توسعه تقسیم سلولی و کشیدگی و افزایش طول منجر به افزایش رشد و توسعه برگ‌ها می‌شود که با تنظیم مثبت ژن‌های مرتبط به اکسین و جیبرلین توسط متانول تایید شده‌اند. افزایش شاخص سطح برگ با کاربرد ۲۰٪ متانول در گیاه اسطوخودوس، و کاربرد ۳۰٪ متانول در گیاه سرخارگل گزارش شده است. افزایش

شاخص سطح برگ با کاربرد نیتروژن در گیاه دارویی خرفه گزارش شده است. در واقع افزایش شاخص سطح برگ در سطوح پائین نیتروژن می تواند به دلیل بهبود شرایط جذب عناصر غذایی در خاک و تأثیر این عناصر به ویژه نیتروژن بر افزایش رشد رویشی گیاه بوده است که منتج به افزایش تعداد برگ و سطح برگ های گیاه شده است.

سرعت رشد محصول: نتایج مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش تنش خشکی سرعت رشد محصول نسبت به شاهد کاهش معنی داری پیدا کرد بطوری که در شرایط تنش شدید میانگین سرعت رشد محصول با بیشترین کاهش (۲۲/۲ درصد) برابر ۲۴/۱ گرم بر متر مربع بر روز مشاهده گردید. کاربرد نیتروژن باعث افزایش سرعت رشد محصول شد و بیشترین افزایش (۱۱/۲ درصد) مربوط به سطح ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بود. محلول پاشی متانول باعث افزایش سرعت رشد محصول نسبت به شاهد شد و بیشترین افزایش سرعت رشد محصول مربوط به سطح متانول ۱۰ درصد با میانگین ۲۸/۷۲ گرم بر متر مربع بر روز بود. نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری و نیتروژن نشان داد که بیشترین میزان سرعت رشد محصول در شرایط بدون تنش آبیاری و کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن با میانگین ۳۳/۸۳ گرم بر متر مربع بر روز به دست آمد در حالی که کمترین میزان سرعت رشد محصول در شرایط تنش شدید و عدم کاربرد نیتروژن با میانگین ۲۲/۳۲ گرم بر متر مربع بر روز بود (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و نیتروژن اثر متقابل آبیاری و متانول روی سرعت رشد محصول

نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری و متانول نشان داد که بیشترین و کمترین سرعت رشد محصول در شرایط بدون تنش آبیاری و کاربرد ۱۰٪ متانول و اثر متقابل تنش شدید آبیاری و کاربرد ۱۰٪ متانول دست آمد. نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل نیتروژن و متانول نشان داد که کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۱۰٪ متانول باعث افزایش سرعت رشد محصول شدند. کاهش سرعت رشد گیاه در شرایط خشکی می تواند به علت افزایش شدت تنفس و کاهش فتوسنتز باشد. کاربرد متانول به عنوان یک منبع مستقیم برای سنتز اسید آمینه سرین و یا کاهش هدررفت کربن از طریق تنفس نوری می باشد. افزایش سرعت رشد گیاه با کاربرد متانول در بادم زمینی گزارش شده است. کاربرد نیتروژن با تأثیر بر اندازه و طول عمر برگ موجب افزایش شاخص سطح برگ می شود. افزایش سرعت رشد محصول با کاربرد نیتروژن با مطالعات در گیاه سیب زمینی گزارش شده است.

سرعت رشد نسبی: نتایج مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش تنش خشکی سرعت رشد نسبی نسبت به شاهد کاهش معنی داری پیدا کرد بطوری که در شرایط تنش شدید میانگین سرعت رشد نسبی با بیشترین کاهش (۴۶/۱ درصد) برابر ۰/۱۷

گرم بر گرم در روز مشاهده گردید. کاربرد نیتروژن باعث افزایش سرعت رشد نسبی شد و بیشترین افزایش (۳۷/۱ درصد) مربوط به کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بود. محلول پاشی متانول باعث افزایش سرعت رشد نسبی نسبت به شاهد شد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و نیتروژن نشان داد که بیشترین سرعت رشد نسبی در کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در شرایط تنش ملایم با میانگین ۰/۲۹۶ گرم بر گرم در روز بدست آمد. نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری و متانول نشان داد که بیشترین سرعت رشد نسبی در صفت سرعت رشد نسبی حاکی از وجود واکنش متفاوت کاربرد سطوح متانول در سطوح مختلف آبیاری می باشد به طوری که در شرایط بدون تنش آبیاری شاهد و کاربرد ۱۰٪ متانول با میانگین ۰/۲۹۸ گرم بر گرم در روز به دست آمد. نتایج همچنین نشان داد که کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۳۰ درصد متانول باعث افزایش سرعت رشد نسبی گیاه سیاهدانه نسبت به نسبت به سایر اثرات متقابل شد. کاهش سرعت رشد نسبی در اثر تنش خشکی در نخود، ذرت و دیگر گیاهان گزارش شده است و نتایج مطالعه ما با تحقیقات فوق در یک راستا بود. گزارش شده است که بین نیتروژن جذب شده و سرعت رشد نسبی در گیاه ارتباط تنگاتنگی وجود دارد (۴).

سرعت جذب خالص: نتایج مقایسات میانگین سرعت جذب خالص نشان داد که با افزایش تنش خشکی سرعت جذب خالص گیاه سیاهدانه نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد و بیشترین کاهش سرعت جذب خالص (۲۵/۴ درصد) در شرایط تنش شدید مشاهده شد. کاربرد نیتروژن سرعت جذب خالص گیاه سیاهدانه را نسبت به شاهد افزایش داد و در سطح ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بیشترین میزان سرعت جذب خالص به دست آمد (۷/۲۷ گرم بر متر مربع برگ در روز). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و نیتروژن نشان داد که بیشترین سرعت جذب خالص در کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن تحت تنش شدید با میانگین ۷/۲۳ گرم بر متر مربع برگ در روز به دست آمد. نتایج نشان داد که سطوح متانول تحت تنش شدید باعث کاهش سرعت جذب خالص شدند و بیشترین کاهش توسط سطح در ۳۰ درصد متانول حاصل شد، در حالیکه در شرایط تنش ملایم و تنش متوسط سطوح متانول باعث افزایش سرعت جذب خالص شدند و بیشترین مقدار سرعت جذب خالص در سطح ۳۰ درصد متانول به دست آمد. نتایج همچنین نشان داد که کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۱۰٪ متانول توانست سرعت جذب خالص را نسبت به عدم کاربرد متانول افزایش دهد. سرعت جذب خالص نشان دهنده مواد معدنی جذب شده در گیاهان میباشد که متانول با افزایش آنتوسیانین ها جذب عناصر معدنی را بهبود می دهد، از این رو می توان اظهار داشت که گیاهان اسپری شده با متانول در مقایسه با شاهد جذب عناصر معدنی بیشتری داشتند. در تحقیقی تنش خشکی سرعت جذب خالص را در سویا کاهش داد، در حالی که محلول پاشی متانول در شرایط تنش خشکی منجر به افزایش معنی دار نرخ جذب خالص و عملکرد سویا شد (۲).

## References

1. Adam Mariod, A., Elwathig, M., Mirghani, S., Hussein, I., 2017. *Nigella sativa* L. Black Cumin. *Unconventional Oilseeds and Oil Sources*. 73-80.
2. Amrayi, B., Pakenjad, F., Ebrahimi, M. A., Sobhanian, H., 2017. The effect of methanol foliar application and drought stress on grain yield and growth indices of soybean (*Glycine max* L.), *Journal of Physiology Crops*. 9(34): 111-129.
3. Hussain, D. A. S., Hussain, M. M., 2016. *Nigella sativa* (black seed) is an effective herbal remedy for every disease except death – a Prophetic statement which modern scientists confirm unanimously: A review, *Advancement in Medicinal Plant Research*. 4(2): 27-57.
4. Macduff, J. H., Humphreys, M.O., Thomas, H., 2001. Effects of a stay-green mutation on plant nitrogen relation in *Lolium perenne* during N starvation and after defoliation. *Annal Botany*. 89 (1): 11.
5. Mirakhori, M., Paknejad, F., Moradi, F., Ardakani, M. R., Zahedi, H., Nazeri, P., 2009. Effect of Drought Stress and Methanol on Yield and Yield Components of Soybean Max (L 17). *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 5 (4): 162-169.

## Growth responses of black cumin to nitrogen and methanol under drought stress

<sup>1</sup>Milad Soltanieh, <sup>2,\*</sup>Daryush Talei, <sup>1</sup>Parisa Nejatkhah

<sup>1</sup>Department of Marines Biology, Faculty of Marines Sciences and Technology, Islamic Azad University North Tehran Branch, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran  
\*milad.soltanieh@yahoo.com

### Abstract

The aim of this study was to investigate the growth responses of black cumin plant to nitrogen and methanol under drought stress. For this purpose, a split split plot experiment based on randomized complete block design with 3 factors and 3 replicates was carried out in the research farm of Agriculture Faculty, Zanzan University, during the Farming year in 1398-1399. The factors were irrigation with 4 levels (no stress, irrigation at 80, 60 and 40% of soil capacity) as a main factor, nitrogen with 4 levels (control, 30, 60 and 90 kg/ha) as a sub-factor and methanol with 3 levels (0, 10 and 30%) as a sub-sub factor. The results showed that different concentrations of nitrogen and methanol under drought stress had a significant effect on most growth indices. So that with increasing drought stress, leaf area index, relative growth rate, crop growth rate and net uptake rate decreased. The results showed that the application of nitrogen and methanol under drought stress moderated the reduction of growth indices. From the study of all measured traits, it can be concluded that among the concentrations of nitrogen and methanol used, the concentration of 60 kg/ha N and 10% methanol, respectively, had the greatest effect in reducing the effects of drought stress on the plant and improving indices.

**Keywords:** Drought stress, Black cumin, Growth indices, Methanol, Nitrogen

