مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/IJMAPR.2021.354715.2995

جلد ۳۷، شماره ۵، صفحه ۸۲۱-۸۰۹ (۱۴۰۰) | شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1400.37.5.7.6

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

عزیز حیاتی[۱]، محمدمهدی رحیمی[۲*]، عبدالصمد کلیدری[۳] و سید ماشااله حسینی[۴]

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

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

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

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

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۰ | تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۴۰۰ | تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۰

چکیده

دانه گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در طب سنتی بسیاری از کشورها جهت پیشگیری و درمان بسیاری از اختلالات و بیماری‌ها از جمله سرفه، آسم، احتناق بینی، سردرد، دندان درد، کرم‌های روده‌ای، اختلالات قاعدگی، بیماری‌های گوارشی و ناتوانی جنسی مصرف می‌شود. به‌منظور بررسی تأثیر اسید هیومیک و نانوکلات آهن در شرایط تنش خشکی بر محتوای اسمولیت‌های محافظت‌کننده اسمزی از جمله گلوکز، فروکتوز، ساکاروز، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز گیاه دارویی سیاهدانه، آزمایشی طی دو سال زراعی ۹۷-۹۸ و ۹۸-۹۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان اقلید انجام شد. این آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تیمار در سه تکرار صورت گرفت. کرت اصلی شامل سه سطح آبیاری (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد آب قابل دسترس) و فاکتورهای فرعی شامل اسید هیومیک (صفر، ۲۵۰ و۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نانو کلات آهن (صفر، ۱ و ۲ گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد که اثر تیمارهای آبیاری، اسید هیومیک و کلات آهن بر محتوای کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکز و پراکسیداز، اثر تیمارهای آبیاری بر محتوای پرولین و اثر تیمارهای آبیاری و اسید هیومیک بر محتوای ساکاروز و فروکتوز معنی‌دار بود. در تیمار ۵۰٪ تنش خشکی، محتوای تمام اسمولیت‌های محافظت‌کننده بالا رفت. در تیمار تنش خشکی ۵۰٪، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن، بیشترین میزان گلوکز، فروکتوز و ساکاروز بدست آمد. به‌طور کلی براساس نتایج این آزمایش، استفاده از کود اسید هیومیک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نانوکلات آهن (۲ گرم در لیتر) به‌منظور کاهش اثرات تنش خشکی بر گیاه سیاهدانه پیشنهاد می‌گردد.

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

مقدمه

سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده آلاله است. این گیاه دو لپه علفی یک‌ساله و ساقه و ریشه‌های راست و منشعب دارد. ارتفاع گیاه ۶۰ تا ۷۰ سانتی‌متر، برگ‌ها دارای بریدگی نخی، برگچه‌های ریز، گل‌های زیبا به رنگ سفید خاکستری تا آبی با پرچم‌های متعدد می‌باشد (Abedi & Pakniyat, 2010). سیاه‌دانه به‌طور وسیع در درمان آسم، سردرد، اسهال خونی، عفونت‌ها، چاقی، کمردرد، فشار خون و مشکلات گوارشی در خاورمیانه و خاور دور استفاده می‌شود و به‌صورت موضعی در درمان آبسه، زخم‌های بینی و روماتیسم کاربرد دارد (Haji Sharifi, 2003). خشکی یکی از مهمترین عوامل تنش‌زا بوده که تولید محصولات را در سطح جهانی کاهش می‌دهد. کشور ایران دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک است و میانگین بارندگی آن در حد یک سوم میانگین جهانی می‌باشد، بنابراین با تنش‌های خشکی و خشکسالی‌های متناوبی درگیر است. خشکی یکی از مهمترین بازدارنده‌های تولید گیاهان در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا به‌شمار می‌رود (Reddy *et al.*, 2004). براساس گزارش Salman و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر هیومیک اسید باعث افزایش عملکرد و کیفیت در تمام هیبریدهای هندوانه مورد آزمایش شد. همچنین بررسی‌های متعددی در زمینه کاربرد کلات آهن در افزایش کلروفیل و سطح برگ، مؤید آن است که کمبود آهن همواره موجب از بین رفتن کلروفیل و تخریب ساختمان کلروپلاست و کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیداز مانند کاتالاز و پراکسیداز می‌گردد (Zuo & Zhang, 2011). کاهش آب در دسترس گیاهان باعث تغییر در فشار تورژسانس سلول‌های گیاهی شده و این موضوع به نوبه خود باعث کاهش رشد و گسترش سلول‌های برگ می‌شود (Sequera-Mutiozabal *et al.*, 2016). در شرایط تنش خشکی، گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن ازجمله پراکسید هیدروژن، سوپر اکسید و رادیکال هیدروکسیل تجمع می‌یابند. گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و ... ایجاد تنش ثانویه اکسیداتیو کرده که منجر به خسارتهای جدی به ساختارهای سلولی می‌شود. گونه‌های گیاهی مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو القاء شده توسط تنش کم‌آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (Hosseini Boldaji *et al.*, 2012). Trevisan و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که ترکیب‌های هیومیکی به دلیل فعالیت‌های هورمونی با افزایش وزن ریشه، بازدهی فتوشیمیایی و سطح آنتی‌اکسیدان‌ها باعث افزایش تحمل گیاه به تنش موجود خواهند شد. بر این اساس هدف از این پژوهش بررسی تأثیر هیومیک اسید و نانوکلات آهن بر بهبود اثرهای منفی ناشی از تنش خشکی با توجه به صفات گلوکز، فروکتوز، ساکارز، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاه دارویی سیاه‌دانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و تیمارها

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

گردید. سپس توسط فاروئر پشته‌هایی به عرض ۳۰ سانتی‌متر ایجاد و زمین به صورت جوی و پشته آماده شد. هر بلوک شامل ۲۷ کرت با فاصله یک متر در نظر گرفته شد و هر کرت شامل ۶ خط کشت به طول ۵ متر با فاصله ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله بلوک‌ها از یکدیگر ۱ متر بود. پس از آماده‌سازی زمین، بذر سیاه‌دانه به‌صورت دستی در تاریخ ۲۵ اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ کشت گردید. تا مرحله ۶ برگی آبیاری همه کرت‌ها بدون کاربرد تیمارهای تنش انجام شد و حجم آب استفاده شده یادداشت گردید. گیاهان سبز شده در ۴ تا ۶ برگی تنک شدند. محلول‌پاشی اسید هیومیک و نانوکلات آهن طی دو مرحله رشد (مرحله ساقه‌دهی و شروع گلدهی) انجام شد. بدلیل دارویی بودن گیاه سیاه‌دانه و احتمال اثر بر روی ترکیب‌های سیاه‌دانه هیچ علف‌کشی استفاده نشد و وجین علف‌های هرز با دست انجام شد. به‌نحوی که تا استقرار کامل گیاه در مرحله ۶ برگی آبیاری همه کرت‌ها بدون کاربرد تیمارهای تنش انجام شد. برخی مشخصات آب و هوایی منطقه مورد آزمایش در جدول ۱ و ویژگیهای خاک در جدول ۲ آورده شده است.

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

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

منبع: اداره هواشناسی اقلید

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

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

نحوه اعمال تیمار تنش خشکی

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

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

D= عمق آب آبیاری به میلی‌متر، FC= رطوبت ظرفیت زراعی، MT= درصد رطوبت وزنی خاک قبل از آبیاری، d= عمق ریشه به میلی‌متر، bd= جرم مخصوص ظاهری گرم بر سانتی‌متر مکعب

با توجه به اعمال فاکتور آبیاری در سطوح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) میزان درصد رطوبت حجمی و رطوبت خاک با دستگاه رطوبت‌سنج دستگاه اندازه‌گیری شد و وقتی رطوبت حجمی خاک به‌ترتیب در سطح ۵۰٪ آب قابل استفاده رطوبت حجمی به عدد ۶/۷۵٪ و سطح ۷۵٪ آب قابل دسترس رطوبت حجمی به عدد ۱۰/۱۲٪ و در سطح ۱۰۰٪ آب قابل استفاده درصد رطوبت حجمی به عدد ۱۳/۵٪ رسید اقدام به آبیاری شد.

اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز از روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۸۱ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۶/۶، ۲۰ میکرولیتر پروتئین محلول نمونه و ۹۰ میکرولیتر گوئیکول ۱٪ به‌عنوان الکترون‌دهنده مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش در کووت ریخته شد و قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳٪ به‌عنوان پذیرنده الکترون به مخلوط واکنش اضافه شد و مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پراکسیداز

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

اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

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

(Ries, 1977).

اندازه‌گیری پرولین

برای تعیین میزان غلظت پرولین یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق گردید و بعد ۵ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین ($C_9H_6O_4$) به آن اضافه شد. بعد از آن ۵ میلی‌لیتر اسید استیک کلاسیال به آن افزوده و پس از به هم زدن، به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده شد. پس از بیرون آوردن از حمام آب‌جوش و خنک شدن آنها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به هر یک از نمونه‌ها افزوده و به‌شدت تکان داده شد تا پرولین وارد مرحله بنزن شود. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند، استانداردهایی از پرولین (صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر) تهیه و در نهایت میزان جذب محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Bates *et al*., 1973).

اندازه‌گیری قندها

برای تعیین کل میزان قندهای محلول، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده یا استانداردها را برداشته و به آن ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه می‌شود، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده و پس از خنک شدن نمونه‌ها، جذب آنها در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت می‌گردد. برای رسم منحنی استاندارد از گلوکز خالص استفاده می‌شود. غلظت‌های ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و همانند نمونه‌های اصلی عملیات ممکن روی آنها انجام می‌گردد (McCready *et al*., 1950).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار چند دامنه‌ای دانکن انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار اکسل ترسیم گردید.

نتایج

محتوای آنزیم کاتالاز

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

محتوای آنزیم پراکسیداز

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

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

محتوای آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

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

محتوای پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای ساده در سطح ۱٪ احتمال آماری بر محتوای پرولین معنی‌دار بودند. تمام اثرهای متقابل دوگانه و سه‌گانه بر این صفت معنی‌دار بودند (جدول ۳). غلظت پرولین طی تنش خشکی در تمامی گیاهان تحت تنش برای تنظیم فشار اسمزی درون گیاه افزایش پیدا می‌کند. مقایسه محتوای پرولین در پاسخ به کاربرد آبیاری× هیومیک اسید× نانوکلات آهن نشان داد که در شرایط ۵۰٪ آب قابل دسترس بالاترین میانگین (۱۶/۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با عدم کاربرد هیومیک اسید و نانوکلات آهن و کمترین میانگین در شرایط ۱۰۰٪ آب قابل دسترس (۵/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با کاربرد ۲ گرم در لیتر نانو کلات آهن و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید بدست آمد (جدول ۴).

محتوای گلوکز

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

محتوای فروکتوز

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

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

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

ns، * و **: به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪

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

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

ادامه جدول ۴- ...

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

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

محتوای ساکارز

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

بحث

در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که اثرهای آبیاری، هیومیک اسید و کلات آهن و اثرهای متقابل آنها با درصدهای احتمال آماری متفاوت بر تمامی صفات مورد اندازه‌گیری معنی‌دار بودند. نتایج تحقیقات بر روی ذرت (Kellos *et al.*, 2008) و بر روی آفتابگردان (Manivannan *et al.*, 2008) نشان دادند که ماهیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به طور معنی‌داری تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد. مطالعه Petridis و همکاران (۲۰۱۲) نشان داده است که تحت تنش خشکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در چهار رقم زیتون افزایش یافته و البته این افزایش در همه رقم‌های مورد مطالعه، یکسان نبوده است. Soleimani و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که با افزایش سطح تنش تا حد مشخصی، بیان ژن سوپراکسید دیسموتاز نیز افزایش می‌یابد (Dorjahangir *et al.*, 2012). محتوای پرولین در برگ‌های بسیاری از گیاهان به‌وسیله تنش‌ها ازجمله خشکی افزایش می‌یابد. بنابراین به نظر می‌رسد که تجمع پرولین آزاد یک پاسخ متداول به تنش در گیاهان عالی باشد. البته اسیدهای آمینه دیگری نیز تحت تنش‌های خشکی و شوری انباشته می‌شوند اما درجه تغییرات آنها با تجمع پرولین که ظرف مدت کوتاهی پس از اعمال تنش به سطوح خیلی بالا می‌رسد قابل مقایسه نیست (Tavakoli *et al.*, 2016). تجمع پرولین یکی از شاخص‌های مهم تحمل به تنش خشکی در گیاهان عالی می‌باشد (Bartels & Sunkars, 2004). تحت تنش خشکی، تجمع پرولین به ایجاد تنظیم اسمزی در سلول‌های گیاه که تحت کمبود آب قرار دارند، کمک می‌کند (Chaves *et al.*, 2002). همچنین Phutela و همکاران (۲۰۰۰) نیز تأکید کردند که تجمع پرولین در بافت گیاهان تنش دیده به علت افزایش میزان سنتز آن به‌وسیله پیرولین-۵-کربوکسیلاز سنتتاز و کاهش میزان تجزیه آن به‌وسیله آنزیم پرولین اکسیداز است. در شرایط تنش خشکی آب قابل دسترس گیاه کاهش می‌یابد و برای حفظ محتوای آب درونی روزنه‌های برگ بسته می‌شود که این امر منجر به کاهش جذب و تثبیت CO_2، بازداری از فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و تغییر در متابولیسم قندها می‌گردد (Flexas *et al.*, 2004). با وجود کاهش تثبیت کربن در برگ‌های تحت تنش خشکی، مقدار زیادی کربوهیدرات محلول در آب مانند گلوکز، فروکتوز، ساکارز استاکیوز، مانیتول و پینیتول تجمع می‌یابند. البته نوع کربوهیدرات‌های محلول در بین گونه‌ها متغیر می‌باشد (Valliyodan & Nguyen, 2006). کربوهیدرات‌های محلول و سایر املاح مانند پرولین به‌عنوان اسمولیت‌ها برای نگهداری تورژسانس سلول برگ، حفاظت غشاء و جلوگیری از دناتوره شدن پروتئین نقش دارند (Bartels & Sunkars, 2004). کربوهیدرات‌های محلول (ساکارز، فروکتوز و گلوکز) نقش اصلی در متابولیسم گیاه در سطح سلولی و گیاه کامل ایفاء می‌کنند. آنها علاوه‌بر منبع انرژی، در واکنش به تنش‌های غیرزنده شرکت می‌کنند و به‌عنوان پیام‌رسان‌های اولیه سیگنال‌هایی را تنظیم می‌کنند که در کنترل بیان ژن‌های مختلف درگیر در متابولیک نقش دارند (Price *et al.*, 2004). بررسی‌های فیزیولوژیکی نشان داده است که قندهایی از قبیل رافینوز گروه

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

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

سپاسگزاری

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

منابع مورد استفاده

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

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

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

A. Hayati[1], M.M. Rahimi[2*], A. Kelidari[3] and S.M. Hosseini[4]

1- Ph.D. student, Department of Agriculture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
2*- Corresponding Author, Department of Agriculture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
E-mail: m.rahimi1351@yahoo.com
3- Department of Agriculture, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
4- Fars Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran

Received: June 2021 Revised: July 2021 Accepted: October 2021

Abstract

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

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