xxxx, xx (x), xx-xx https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.364314.1509

Seed Science Society of Iran

Seed and Plant Certification and Registration Institute

Iranian Journal of
Seed Science and Technology

ISSN: 2588-4638

Research Article

Improving the quality of seed populations *Nigella sativa* L. with the combination of sulfur and biological compounds in calcareous soil under drought stress conditions

Reza Taherdoost[1], Mahmood Dejam[2*], Mehdi Madandoust[3], Farhad Mohajeri[2]

1. Ph.D. student of Agronomy. Islamic Azad University, Fasa Branch, Fasa, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Agriculture, Islamic Azad University, Fasa Branch, Fasa, Iran.
3. Associate Professor. Department of Agriculture, Islamic Azad University, Fasa Branch, Fasa, Iran.

Article Information

Received: 22 Dec. 2023
Revised: 08 Feb. 2024
Accepted: 20 Feb. 2024

Keywords:
Amylase activity,
Mycorrhiza,
Seed vigor,
Soluble protein

Corresponding Author:
mahmood.dejam@iau.ac.ir

Abstract

The use of sulfur (S) is of special interest in arid and semi-arid Iran since most soils are calcareous. In order to improve germination, seedling growth, and quality of *Nigella sativa* L. seeds obtained from mother plants grown under drought stress conditions, this investigation was performed in split plots with a completely randomized block design with three replications in research farm Fasa City in 2022. The main factor was irrigation after 25, 50 and 75 percent of soil moisture depletion and the subplots were fertilizer in 8 levels including 100 % S, 50% S + thiobacillus, 50% S + mycorrhiza, 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza, thiobacillus, mycorrhiza, thiobacillus+ mycorrhiza and control. The results showed that in irrigation treatment with 75 percent soil moisture depletion, the integration of 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza decreased the seed membrane stability by 23 percent compared to the control. In an irrigation regime with 75 percent soil moisture depletion, the integration of 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza and 50% S+ mycorrhiza caused a 31 percent increase in amylase activity in seeds endosperm about control. The highest germination percent and rate are also observed in the integration of 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza. Moreover in the treatment with 75 percent soil moisture depletion, the 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza increased the seed vigor to 46 percent. With regards to the positive effects of sulfur integration with Thiobacillus and mycorrhiza in the improvement of the quality of seeds derived from black cumin under drought stress, the use of these biological compounds should be recommended.

How to cite this paper: Taherdoost, R., Dejam, M., Madandoust, M., Mohajeri, F. (2025). Improving the quality of seed populations *Nigella sativa* L. with the combination of sulfur and biological compounds in calcareous soil under drought stress conditions. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, *XX* (X), XX-XX. https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.364314.1509

© Authors, Published by Iranian Journal of Seed Science and Technology. This is an open-access article distributed under the CC BY (license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

EXTRACT ABSTRAC

Introduction

Drought stress, a serious environmental pressure on crop production, might be counteracted by free-living and symbiotic inoculants entailing positive synergistic effects. Enhancement in nutrient uptake and/or production of antioxidants under the stress condition, can improve plant growth and yield. *Nigella sativa* L., a sulfur-loving cash crop, suffers from declining soil sulfur with continuous cropping, hindering its growth and development. Mycorrhiza form beneficial partnerships with plant roots, aiding in nutrient uptake and promoting plant growth. Recent research has increasingly focused upon mycorrhiza potential to enhance sulfur absorption through increased rhizosphere microbial activity. This study holds significant implications for improving available sulfur content and utilization in sulfur-deficient soils. Furthermore, it provides a theoretical basis for using mycorrhiza as a biofertilizer to remediate sulfur - deficiency, offering a sustainable and environmentally friendly solution.

Materials and Methods

In order to improve germination, seedling growth, and quality of *Nigella sativa* L. seeds obtained from mother plants grown under drought stress conditions, this investigation was performed in split plots with a completely randomized block design with three replications in research farm Fasa City in 2022. The main factor was irrigation after 25, 50 and 75 percent of soil moisture depletion and the subplots were fertilizer in 8 levels including 100 % S, 50% S + thiobacillus, 50% S + mycorrhiza, 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza, thiobacillus, mycorrhiza, thiobacillus+ mycorrhiza and control.

Results and Discussion

The results showed that in irrigation treatment with 75 percent soil moisture depletion, the integration of 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza decreased the seed membrane stability by 23 percent compared to the control. In an irrigation regime with 75 percent soil moisture depletion, the integration of 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza and 50% S+ mycorrhiza caused a 31 percent increase in amylase activity in seeds endosperm about control. The highest germination percent and rate are also observed in the integration of 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza. Moreover in the treatment with 75 percent soil moisture depletion, the 50% S+ thiobacillus+ mycorrhiza increased the seed vigor to 46 percent. We found that mycorrhiza significantly impacted the rhizosphere microbiome's community structure and function related to soil sulfur cycling in continuously cropped soil.

Conclusions

Mycorrhiza is a promising strategy to address this sulfur deficiency stress in *Nigella sativa* L. These beneficial fungi help *Nigella sativa* L. maximize uptake and utilization of available soil sulfur. Mycorrhiza form highly branched, arbuscular structures within the host plant's root cortex cells, facilitating a two-way resource exchange. Additionally, mycorrhiza produce extensive mycelial networks reach beyond the root system, specifically targeting low-mobility nutrients like sulfur and phosphorus in depleted soil areas. These are then transported to the crop roots. The mycorrhiza received carbon-based nutrients like carbohydrates and fatty acids in return. This symbiotic relationship between mycorrhiza and *Nigella sativa* L. offers a sustainable and effective solution to combat sulfur deficiency, promoting optimal growth and yield. The thiobacillus inoculation with mycorrhizal fungi, either aloneis indicated for quality of seed populations through alleviation of the drought stress**.**

In Press

دوره xx، شماره x، صفحات xx-xx

https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.364314.1509

نشریه علوم و فناوری بذر ایران

ISSN: 2588-4638

مقاله پژوهشی

بهبود کیفیت توده بذرهای گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) با تلفیق گوگرد و ترکیبات زیستی در خاک آهکی تحت شرایط تنش خشکی

رضا طاهردوست[1]، محمود دژم[2]*، مهدی مدن دوست[3]، فرهاد مهاجری[2]

۱. دانشجوی دکتری، رشته زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا

۲. استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا

۳. دانشیار، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا

چکیده

استفاده از گوگرد در مناطق خشک و نیمه خشک ایران از اهمیت ویژه ای برخوردار است، زیرا بیشتر خاک‌ها آهکی هستند. این پژوهش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۱ در مزرعه تحقیقاتی در شهرستان فسا اجرا شد. فاکتور اصلی سه سطح آبیاری پس از ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی خاک و فاکتور فرعی منابع کودی در هشت سطح (۱۰۰ درصد گوگرد، ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس، ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا، ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا، تیوباسیلوس، مایکوریزا، تیوباسیلوس+ مایکوریزا و شاهد) بود. نتایج نشان داد در آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب کاهش ۲۳ درصدی پایداری غشای بذر در مقایسه با شاهد شد. در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا و تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا سبب افزایش ۳۱ درصدی فعالیت آلفا آمیلاز آندوسپرم بذر نسبت به شاهد شد. همچنین بیش‌ترین درصد و سرعت جوانه زنی در تیمار ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا+ تیوباسیلوس مشاهده شد. در آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب افزایش ۴۶ درصدی بنیه بذر شد. در مجموع با توجه به تأثیر مثبت تلفیق گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا در بهبود کیفیت بذرهای تولید شده از گیاه سیاه دانه می‌توان مصرف این ترکیبات را در شرایط تنش خشکی توصیه نمود.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۱

واژه‌های کلیدی:

آلفا آمیلاز،

بنیه بذر،

پروتئین محلول،

مایکوریزا

نویسنده مسئول:

mahmood.dejam@iau.ac.ir

نحوه استناد به این مقاله:

Taherdoost, R., Dejam, M., Madandoust, M., Mohajeri, F. (2025). Improving the quality of seed populations *Nigella sativa* L. with the combination of sulfur and biological compounds in calcareous soil under drought stress conditions. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, *XX* (X), XX-XX. https://doi.org/10.22092/ijsst.2024.364314.1509

مقدمه

سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* L. از خانواده *Ranunculaceae* گیاهی یکساله بوده و میوه این گیاه به شکل فولیکول بوده که بذرهای سیاه و معطر سیاه‌دانه داخل آن قرار دارد (Ijaz et al., 2017). گیاه سیاه‌دانه در برخی نقاط ایران اخیرا به صورت زراعی کاشته می‌شود و مصارف گسترده ای در صنعت غذایی و دارویی کشور دارد (Hosseini et al., 2018). بذر سیاه دانه منبع غنی از اسیدهای چرب ضروری و غیر اشباع مانند لینولئیک اسید و اولئیک اسید و نیز ترکیبات دیگر مثل روغن، فسفولیپیدها، کاروتن، کلسیم، آهن و پتاسیم می‌باشد (Cheikh-Rouhou et al., 2007). مصارف درمانی سیاه دانه در کاهش کلسترول خون و جلوگیری از ایست قلبی به کار می‌رود. همچنین استفاده سیاه دانه برای خواص درمانی ضد التهابی و فعالیت ضد میکروبی کمک شایانی می کند (Kazemi, 2014; Majeed et al., 2020).

یکی از مهمترین مشکلات بخش کشاورزی تنش های محیطی از جمله تنش خشکی است که سبب کاهش عملکرد کمی و کیفی گیاهان می‌شود (Saha et al., 2022). تنش خشکی به‌طور مستقیم بر فرایندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان دارویی از جمله سیاه دانه موثر است (Bayati et al., 2022). همچنین تنش خشکی در طی دوره رشد گیاه مادری بر کمیت و کیفیت بذر تولیدی موثر است (Attarzadeh et al., 2019). عوامل تنش‌زای محیطی قابلیت تغییر روی بذر تولیدی در گیاهان از طریق کاهش درصد جوانه زنی، بنیه بذر و کاهش وزن هزار دانه را دارند. بنابراین، تمام این عوامل محیطی و ژنتیکی در ارزیابی عملکرد بذر اهمیت دارند (Reed et al., 2022). به‌دلیل آنکه تنش خشکی ممکن است رشد و فرآیندهای نموی گیاهان را مختل می کند، کیفیت بذرهای تولید شده در مقایسه با شرایط شاهد متفاوت است (Yigit et al., 2016). بنابراین هر چند که تولید بذر در شرایط تنش های محیطی از جمله تنش خشکی به دلیل کاهش کمیت و کیفیت بذر تولیدی یک استراتژی محتاطانه برای تولید بذر می باشد. اما تحقیقات متمرکز روی ادغام گزینه های مدیریتی مختلف می تواند منجر به تولید پایدار بذر شود که ممکن است به طور قابل توجهی در آینده به امنیت غذایی جهانی کمک کند (Dornbos, 2020). بر طبق گزارش های محققان در حال حاضر ما وضعیت فعلی تولید بذر در شرایط مطلوب را بررسی می کنیم. اگرچه پژوهش های آینده باید تولید بذر را در شرایط تنش های مختلف محیطی پیشنهاد کنیم که قطعا از نظر منابع با کشاورزی در شرایط مطلوب رقابت نخواهد کرد (Dornbos, 2020). در نتیجه چشم‌اندازهای جدیدی برای افزایش تحمل و بازیابی بهره‌وری گیاهان در شرایط تنش های محیطی مورد نیاز است (Mishra et al., 2021).

در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک جنوب کشور به دلیل آهکی بودن خاک ها و کربنات کلسیم بالا، کارایی استفاده از عناصر غذایی بسیار پایین است، زیرا برخی از عناصر غذایی مثل فسفر، آهن، روی و منگنز به سرعت به شکل های غیر قابل دسترس تبدیل می‌شوند (Asadi Rahmani et al., 2018). بنابراین یکی از روش های قابل کاربردی استفاده از گوگرد می باشد. گوگرد نقش مهمی در تشکیل پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دارد. همچنین گوگرد نقش مهمی در سنتز اسیدهای آمینه مانند سیستئین و متیونین دارد (Shah et al., 2022). در نتیجه استفاده از گوگرد در خاک های آهکی به دلیل کاهش pH خاک، دسترسی به عناصر غذایی گیاه همراه با حاصلخیزی افزایش می یابد (Sakin & Yanardağ, 2023). از این رو علاوه بر مصرف شیمیایی گوگرد، استفاده از باکتری‌های اکسید کننده گوگرد و قارچ مایکوریزا می تواند از نظر اقتصادی و زیست محیطی مفید باشد (Heydari & Pirzad, 2021). استفاده از باکتری تیوباسیلوس، اکسیداسیون طبیعی گوگرد را افزایش می‌دهد و تولید سولفات‌ها را تسریع می‌بخشد، که می‌تواند توسط گیاهان برای کاهش اسیدیته خاک استفاده شود (Liu et al., 2023a). از سوی دیگر شواهد قابل توجهی نشان می‌دهد که قارچ مایکوریزا آربوسکولار سبب افزایش تحمل گیاهان میزبان به خشکی می‌گردد (Ben Laouane et al., 2019). همزیستی بین گونه‌های گیاهی با قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار ممکن است اثرات مضر ناشی از تنش خشکی را از طریق افزایش جذب عناصر غذایی سبب بهبود کارایی فتوسنتز و افزایش عملکرد محصول شود (Attarzadeh et al., 2019). همچنین، در سالیان اخیر گزارش شده است که تلفیق قارچ مایکوریزا و باکتری تیوباسیلوس از طریق

In Press

بهبود جذب عناصر غذایی و تنظیم هورمون‌های رشد اثرات منفی تنش‌های محیطی را کاهش می‌دهد (Ansori & Gholami, 2015; Heydari & Pirzad, 2020).

با توجه به اینکه تنش خشکی از چالش‌های عمده حال حاضر کشاورزی است و در آینده نزدیک امنیت غذایی، بهره‌وری کشاورزی و پایداری محیط زیست را به خطر می‌اندازد، یافتن فن‌آوری‌های جدید برای بهبود تولید بذرهای با کیفیت در شرایط تنش خشکی یک نیاز اساسی است. استفاده از تلفیق گوگرد و ترکیبات زیستی را می‌توان از جمله تکنیک‌های سازگار با محیط زیست برای کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی در خاک‌های آهکی معرفی کرد. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی دقیق‌تر پاسخ جوانه‌زنی و رشد بذرهای تولیدی سیاه دانه در شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری است.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و تیمارها

این پژوهش از توده‌های بذری حاصل جمع آوری و برداشت دانه از بوته‌های سیاه‌دانه تحت تاثیر فواصل مختلف آبیاری و منابع کودی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا که واقع در شهرستان فسا با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱۵ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ۲۴ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۷۰ متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۱ اجرا شد. فاکتور اصلی فواصل آبیاری در ۳ سطح (آبیاری پس از ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی خاک) و فاکتور فرعی منابع کودی در هشت سطح (۱۰۰ درصد گوگرد، ۵۰ درصد گوگرد+ کود زیستی تیوباسیلوس، ۵۰ درصد گوگرد+ قارچ مایکوریزا، ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا، تیوباسیلوس، مایکوریزا، تیوباسیلوس+ مایکوریزا و شاهد بدون کود) بود.

اجرای آزمایش

از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک قبل از اجرای آزمایش نمونه‌برداری و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش.

Table 1- The results of the chemical and physical analysis of the soil at the experiment location

بافت Texture	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته pH	S	Fe	Zn	Mn	K	P	N (%)	کربن آلی O.C. (%)
			($mg.kg^{-1}$)							
Sandy loam	1.32	8.21	25.1	0.98	1.11	2.6	265	4.5	0.1	0.72

برای انجام آزمایش ابتدا توسط گاوآهن برگرداندار زمین شخم زده شد و بعد از توسط دیسک کلوخه‌ها خرد و با ماله تسطیح کامل انجام و در پایان فاروبندی صورت گرفت. دانه‌های سیاه‌دانه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. هر کرت آزمایشی شامل چهار ردیف کاشت به طول سه متر و عرض دو متر بود. همچنین فاصله ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر بود. ایتدا بذرها روی ردیف متراکم کاشته شد و پس از چهار برگی در حدود ۲۰۰ بوته در متر مربع تنک شد (Seyyedi et al., 2015). فواصل بین کرت‌ها و فواصل بین تکرار به ترتیب یک و دو متر بود. پس از آماده‌سازی زمین برای کاشت، کاربرد ترکیبات زیستی و شیمیایی بر پایه تیمارهای مورد بررسی انجام شد. تیمار ۱۰۰ درصد گوگرد به میزان ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار کود گوگرد و برای ۵۰ درصد، نصف این میزان استفاده شد (Asadi Rahmani et al., 2018). کود زیستی تیوباسیلوس (*Tiobacilus thiooxidans*) و مایکوریزا آربوسکولار (*Glomus intraradices*) مورد استفاده در این پژوهش از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. کود زیستی تیوباسیلوس به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار با تراکم 10^4 سلول تیوباسیلوس در هر گرم

In Press

خاک استفاده شد (Asadi Rahmani et al., 2018). همچنین هنگام کاشت مقدار پنج گرم از خاک حاوی مایکوریزا به ازای هر بوته استفاده گردید. در هر گرم خاک تعداد ۱۲۰ اسپور برای قارچ مایکوریزا وجود داشت (Attarzadeh et al., 2019). نیتروژن مورد نیاز گیاه از منبع کود اوره و به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و در سه تقسیط مساوی (در مرحله شش برگی، ساقه‌دهی و شروع گلدهی) مصرف شد. علاوه بر آن، برای تامین نیاز فسفر و پتاسیم مقدار ۱۰۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل در هکتار و ۱۰۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم در هکتار به طور یکنواخت به‌صورت نواری در زیر خطوط کاشت قرار گرفت.

در اسفند ماه ۱۴۰۰ شروع به کاشت بذرها شد و در طول دوران رشد و نمو سیاه دانه، عملیات وجین علف های هرز در کرت ها با دست انجام گرفت. بعد از کاشت بذرها، آبیاری اول و دوم برای تمامی تیمارها به دلیل یکنواختی سبز شدن بذرها براساس تیمار آبیاری شاهد (۲۵ درصد تخلیه رطوبتی) انجام شد. برای تعیین مقدار رطوبت خاک در شرایط ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائم از دستگاه صفحه فشاری استفاده شد. اندازه گیری رطوبت خاک با روش وزنی از طریق نمونه گیری های مکرر از عمق توسعه ریشه در وسط هر کرت در هر تکرار به منظور رسیدن به رطوبت لازم برای سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبت قابل استفاده شد (Attarzadeh et al., 2019). پس از سبز شدن بذرها، تیمارهای آبیاری اعمال شد. براساس درصد تخلیه رطوبت آب قابل استفاده خاک، تیمارهای آبیاری در عمق توسعه ریشه اعمال شد. تیمار شاهد به عنوان رطوبت تخلیه ۲۵ درصد آب قابل استفاده خاک در نظر گرفته شد و سایر تیمارهای آبیاری شامل تخلیه ۵۰ درصد آب قابل استفاده و تخلیه ۷۵ درصد آب قابل استفاده خاک بود. فاصله دور آبیاری برای تیمار ۲۵ درصد تخلیه رطوبتی پس از تخلیه ۲۵ درصد آب قابل استفاده خاک در نقطه ظرفیت زراعی و تیمارهای ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی به ترتیب پس از تخلیه ۵۰ و ۷۵ درصد آب قابل استفاده خاک آب در نقطه ظرفیت زراعی، آبیاری گردید. برای آبیاری کرت های آزمایشی از آبیاری نواری یا تیپ انجام شد. برای تعیین مقدار رطوبت خاک در شرایط ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائم از دستگاه صفحه فشاری استفاده شد.

اندازه‌گیری صفات

پروتئین محلول و پایداری غشای بذرها

اندازه گیری پروتئین محلول از طریق روش دین (Dean, 1985) اندازه گیری شد. همچنین از هر تیمار سه تکرار ۱۰۰ عدد بذری به‌صورت تصادفی برای انجام آزمون هدایت الکتریکی استفاده شد. ابتدا وزن نمونه ها اندازه گیری شد و نمونه ها به‌طور جداگانه در داخل ظرف‌های سربسته با فویل آلومینیومی حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده، به مدت ۲۴ ساعت غوطه ور شدند. همچنین ظرفی محتوی آب دو بار تقطیر شده نیز به‌عنوان شاخص شاهد در نظر گرفته شد. بعد از مدت زمان ۲۴ ساعت با استفاده از دستگاه EC متر مدل Con110 ساخت شرکت Lovibond آلمان، پایداری غشای بذر با واحد میکروزیمنس بر سانتی‌متر بر گرم در هر ظرف اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان پایداری غشای بذر هر نمونه بذر با استفاده فرمول پایداری غشای بذر محاسبه شد، به‌طوری که عدد خوانده شده از EC متر تقسیم بر وزن خشک ۱۰۰ عدد بذر شد (ISTA. 2003).

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز

جهت اندازه گیری فعالیت آلفا و بتا آمیلاز بذر جوانه زده شده، نمونه های بذری جوانه‌زده در بافر سدیم فسفات ۰/۰۲ مولار، اسیدیته ۶/۹ و ۰/۰۰۶ مولار برای آلفا آمیلاز و بافر سدیم استات ۰/۰۱۶ مولار، اسیدیته ۴/۸ برای بتا آمیلاز در هاون چینی ساییده و پس از آن با ۱۲۰۰۰ دور در دمای دو تا چهار درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (مدل یونیور شرکت Hettich آلمان با ۴۰۰۰ دور در دقیقه) شدند. سپس از کاغذ صافی عبور داده شدند و محلول حاصل برای اندازه گیری آنزیم آلفا و بتا آمیلاز استفاده شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی در هر لوله آزمایش ریخته شده و پس از آن به هر لوله آزمایش ۰/۵ میلی لیتر نشاسته یک درصد افزوده شد. پس از سه دقیقه به میزان یک میلی لیتر شناساگر دی نیتروسالیسیلیک اسید (Dinitrosalicylic acid) با شناسه محصول ۴-۹۹-۶۰۹ که از شرکت مرک آلمان تهیه شده بود، به هر لوله آزمایش اضافه شد. همچنین برای تهیه نمونه شاهد عصاره آنزیمی حذف شد. لوله های آزمایش به مدت پنج دقیقه در دستگاه حمام آب گرم یا بن ماری (مدل WNB14 شرکت MEMMERT آلمان) قرار داده

شدند. پس از سرد شدن در دمای اتاق، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله های آزمایش افزوده شد. در نهایت میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Vis 2100 شرکت UNICO آمریکا) در ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Bernfeld, 1955).

شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد

بذری جوانه‌زده تلقی شد که ریشه‌چه آن دو میلی‌متر از پوسته‌ی بذر خارج شده بود و تعداد بذور جوانه‌زده هر روز شمارش گردید. پس از شمارش بذرهای جوانه‌زده، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط‌کش بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن خشک گیاهچه شامل وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه، پس از قرارگیری در آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت تعیین شد. در پایان درصد و سرعت جوانه‌زنی، با استفاده از روابط شماره یک و دو محاسبه شد (Maguire, 1962; Nichols & Heydecker, 1986).

رابطه ۱ $GP=(NG/NT)\times100$

GP درصد جوانه‌زنی، NG تعداد بذرهای جوانه‌زده و NT تعداد کل بذرها بود.

رابطه ۲ $RS=\Sigma^{n}_{i=1}(S_i/D_i)$

RS سرعت جوانه‌زنی بذر، S_i تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز، D_iتعداد روز تا شمارش n ام بود.

شاخص بنیه گیاهچه با استفاده از رابطه شماره سه اندازه‌گیری شد (Copeland & McDonald, 2001).

رابطه ۳ بنیه گیاهچه =

(میانگین طول گیاهچه × درصد جوانه‌زنی استاندارد) /۱۰۰

از بذر های برداشت شده مزرعه در هر کرت به طور تصادفی ۱۰۰ عدد بذر جدا گردید و برای تعیین وزن هزار دانه مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات مختلف با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. در صورت معنی‌دار بودن اثر متقابل، برش‌دهی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

پایداری غشا و پروتئین محلول بذر

پایداری غشا و پروتئین محلول تحت تاثیر فواصل آبیاری و منابع کودی قرار گرفت، همچنین اثر برهم‌کنش عوامل آزمایش روی پایداری غشا و پروتئین محلول بذر معنی داری بود (جدول ۲). در آبیاری ۲۵ درصد تخلیه رطوبتی، هدایت الکتریکی بذر در تیمار تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا در مقایسه با شاهد کاهش ۲۲ درصدی نشان داد (جدول ۳). همچنین مصرف قارچ مایکوریزا به تنهایی و یا در تلفیق با مصرف ۵۰ درصد گوگرد و تیوباسیلوس سبب کاهش پایداری غشا بذر نسبت به شاهد شد. در آبیاری ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی، تیمارهای ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا، تیوباسیلوس، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا و تلفیق تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب کاهش پایداری غشا بذر در مقایسه با شاهد شد. در آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب کاهش ۲۳ درصدی پایداری غشا بذر در مقایسه با شاهد شد، اما بقیه تیمارها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

در سطح آبیاری ۲۵ درصد تخلیه رطوبتی، پروتئین محلول بذر در تیمار تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا در مقایسه با شاهد افزایش هفت درصدی نشان داد (جدول ۳). همچنین مصرف به تنهایی مایکوریزا و یا در تلفیق دو گانه با ۵۰ درصد گوگرد و یا تیوباسیلوس سبب افزایش پروتئین محلول بذر شد. هم‌چنین حداکثر پروتئین محلول بذر در سطح آبیاری ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی در تیمار تلفیق۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا با میانگین ۶۹/۴۶ میلی‌گرم بر گرم بدست آمد. در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی مصرف سه گانه تلفیق۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا و پس از آن مصرف به تنهایی مایکوریزا و یا در تلفیق دو گانه با ۵۰ درصد گوگرد و یا تیوباسیلوس، نسبت به تیمار برتر در گروه بعدی

In Press

آماری قرار گرفتند (جدول ۳).

بالا بودن پایداری غشا بذر به دلیل تخریب غشای سلولی با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن انجام می‌گیرد (Mangal et al., 2022). وجود تنش‌های محیطی روی گیاه مادری سبب شده که پیوندهای هیدروژنی و دی‌سولفیدی در پروتئین‌ها و چربی‌ها تغییر کرده و ساختار غشای سلولی بذر تولیدی را تحت تاثیر قرار دهد. در نتیجه ساختار غشای بذر تخریب شده و باعث افزایش پایداری غشا بذر می‌شود (Bakhshandeh & Jamali, 2020). گزارش شده است که استفاده از گوگرد همراه با قارچ مایکوریزا با تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه سبب بهبود رشد گیاه و کاهش اثرات منفی روی بذر تولیدی می‌شود (Wipf et al., 2014). استفاده از قارچ مایکوریزا در جذب مواد مغذی و آب توسط گیاه تاثیر گذاشته، بنابراین سبب افزایش کمیت و کیفیت بذرهای تولیدی در شرایط تنش می‌شود (Igiehon et al., 2021). همچنین، تیوباسیلوس و قارچ مایکوریزا با القای بیان برخی ژن‌های خاص و تعادل در هورمون‌های گیاهی سبب بهبود جذب آب شده در نتیجه سبب بهبود بذرهای تولیدی می‌شود (Heydari & Pirzad, 2020; Mostafavian et al., 2008).

فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز

فواصل آبیاری و منابع کودی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز را تحت تاثیر قرار دادند، همچنین اثر برهم‌کنش عوامل آزمایش روی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز معنی‌داری بود (جدول ۲). در سطح آبیاری ۲۵ درصد تخلیه رطوبتی، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر در تیمار تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا در مقایسه با شاهد افزایش ۱۹ درصدی نشان داد (جدول ۳). همچنین تلفیق دو گانه مایکوریزا با ۵۰ درصد گوگرد و یا تیوباسیلوس سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر شد. در سطح آبیاری ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی، تیمار ۱۰۰ درصد گوگرد و دو گانه و سه گانه منابع کودی سبب افزایش فعالیت آلفا آمیلاز بذر نسبت به شاهد شد. از سوی دیگر در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا و تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا سبب افزایش ۳۱ درصدی فعالیت آلفا آمیلاز بذر نسبت به شاهد شد (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات پایداری غشا بذر، پروتئین محلول، آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه، بنیه بذر، وزن هزار دانه در سیاه‌دانه.

Table 2- Analysis of variance of seed membrane stability, soluble protein, alpha- amylase, beta- amylase, germination percent, germination rate, root length, stem length, seedling dry weight, seed vigor and 1000-seed weight of *Nigella sativa* L.

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی DF	پایداری غشا بذر Seed Membrane stability	پروتئین محلول Soluble protein	آلفا آمیلاز Alpha- amylase	بتا آمیلاز Beta- amylase	درصد جوانه‌زنی Germination percent	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Stem length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	بنیه بذر Seed vigor	وزن هزار دانه 1000-Seed weight
تکرار Replication	2	17.21 ns	71.16 **	0.0001 ns	0.0020 ns	112.92 ns	0.0035 ns	0.1100 ns	0.2164 ns	0.2225 ns	0.2074 *	0.3032 ns
فواصل آبیاری Irrigation Interval	2	433.94 **	263.79 **	0.0091 **	0.0208 **	747.90 **	0.0201 *	2.902 **	2.126 *	2.5519 **	5.6548 **	0.3840 *
خطای a Error a	4	12.70	3.61	0.0003	0.0015	29.41	0.0075	0.4259	0.3187	0.2358	0.4390	0.1340
منابع کودی Fertilizer sources	7	90.35 **	31.02 **	0.0068 **	0.0068 **	147.39 **	0.0137 **	0.9262 **	0.7856 **	0.3123 **	1.4661 **	0.0952 **
فواصل آبیاری × منابع کودی Irrigation Interval × Fertilizer sources	14	4.98 *	2.62 *	0.0011 **	0.0001 ns	50.60 **	0.0006 **	0.0504 ns	0.0614 **	0.0827 **	0.0631 *	0.0064 ns
خطای b Error b	42	4.50	1.09	0.0003	0.0010	21.84	0.0004	0.0666	0.0524	0.0825	0.0577	0.0123
ضریب تغییرات C.V. (٪)	_	10.6	8.5	15.0	11.6	13.5	9.4	6.0	7.1	13.3	7.1	11.6

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری.

**, * and ns are significant at the 5 and 1 percent of probability levels and non-significant, respectively.

In Press

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش فواصل آبیاری و منابع کودی روی هدایت الکتریکی بذر، پروتئین محلول، فعالیت آلفا آمیلاز و درصد جوانه‌زنی سیاه‌دانه

Table 3- Mean comparison interaction of irrigation intervals and fertilizer sources for seed electrical conductivity, soluble protein, alpha- amylase activity and germination percent of *Nigella sativa* L

فواصل آبیاری (تخلیه رطوبتی) Irrigation intervals (Available moisture depletion)	منابع کودی Fertilizer sources	پایداری غشا بذر Seed Membrane stability ($dS.m^{-1}$)	پروتئین محلول Soluble protein ($mg.g^{-1}$)	آلفا آمیلاز Alpha- amylase ($\mu moles.ml^{-1}.min^{-1}$)	درصد جوانه‌زنی Germination percent (%)
25 %	100 % S	30.06 a	67.20 bc	0.361 bcd	88.00 a
	50 % S+Thiobacillus	29.74 a	67.20 bc	0.360 bcd	87.10 a
	50 % S+AMF	24.51 b	69.23 ab	0.387 ab	92.06 a
	50 % S+Thiobacillus+AMF	23.80 b	70.70 a	0.400 a	95.00 a
	Thiobacillus	30.03 a	70.56 a	0.342 cd	81.10 a
	AMF	24.36 b	70.10 a	0.364 bcd	93.86 a
	Thiobacillus+AMF	24.51 b	69.80 a	0.371 ab	92.56 a
	Control	30.72 a	66.30 c	0.336 d	86.53 a
50 %	100 % S	34.81 ab	65.16 c	0.372 ab	84.34 bc
	50 % S+Thiobacillus	33.40 ab	64.03 cd	0.361 ab	81.84 c
	50 % S+AMF	30.74 bc	68.90 ab	0.390 ab	89.26 a
	50 % S+Thiobacillus+AMF	27.96 c	69.46 a	0.392 a	91.46 a
	Thiobacillus	34.64 ab	65.03 cd	0.316 c	83.40 c
	AMF	32.22 abc	67.53 b	0.350 bc	87.86 ab
	Thiobacillus+AMF	30.83 bc	67.86 b	0.356 ab	88.96 a
	Control	35.90 a	63.50 d	0.314 c	81.00 c
75 %	100 % S	39.13 ab	61.42 cd	0.342 ab	76.66 cd
	50 % S+Thiobacillus	38.83 ab	61.16 cd	0.335 b	75.80 cde
	50 % S+AMF	38.61 ab	64.06 ab	0.370 a	81.40 ab
	50 % S+Thiobacillus+AMF	31.32 c	65.20 a	0.370 a	84.40 a
	Thiobacillus	38.03 ab	61.23 cd	0.286 c	75.13 de
	AMF	38.44 ab	62.61 bc	0.316 b	79.20 bc
	Thiobacillus+AMF	39.80 ab	64.00 ab	0.326 b	83.36 a
	Control	40.71 a	59.75 d	0.283 c	72.75 e

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، حروف مختلف هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار هستند.

Different letters indicate significant differences based on Duncan's multiple range tests in each column.

فعالیت آنزیم بتا آمیلاز در فواصل آبیاری ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی در مقایسه با ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی افزایش معنی داری نشان داد (جدول ۴). همچنین افزایش ۱۹ درصدی فعالیت آنزیم بتا آمیلاز در تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین مصرف ۱۰۰ درصد گوگرد و مصرف به تنهایی قارچ مایکوریزا و یا در تلفیق با تیوباسیلوس سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم بتا آمیلاز شد. (جدول ۵).

در فرایند جوانه‌زنی بذر، بخشی از فعالیت متابولیکی به دلیل فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز می‌باشد که کاهش فعالیت آنها می تواند باعث کاهش درصد و سرعت جوانه زنی بذر شود (Gimbi & Kitabatake, 2002). بنابراین در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی به دلیل تأثیر منفی تنش خشکی روی گیاه مادری سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بذور می شود. از سوی دیگر استفاده از قارچ مایکوریزا از طریق ایجاد تعادل در کارکرد فعالیت متابولیکی بذرهای گیاه سبب افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز گردید (Miura et al., 2023). احتمالا افزایش در فعالیت این آنزیم ها به‌دلیل کاهش هدایت الکتریکی و کمتر شدن تخریب ساختار یاخته‌ای به‌دلیل تاثیر موثر تیمارهای مورد استفاده بوده است. بنابراین در شرایط تنش های محیطی، افزایش نشت‌پذیری غشاهای یاخته بر سوخت و ساز یاخته آثار مخربی دارد و سبب تغییر ماهیت و فعالیت آنزیم ها می شود (Morales-Cedillo et al., 2015). بر طبق گزارش محققان به نظر می‌رسد بخش زیادی از واکنش‌های متابولیک سلولی بذر گیاهان تحت تأثیر تلفیق مایکوریزا و تیوباسیلوس قرار گرفته و در نهایت روی کیفیت بذر تولیدی در شرایط تنش‌های غیرزنده محیطی موثر است (Poonia, 2019; Sheteiwy et al., 2021).

جدول ۴- مقایسه میانگین فواصل آبیاری روی فعالیت بتا آمیلاز، طول ریشه‌چه و وزن هزار دانه سیاه‌دانه

Table 4- Mean comparison of irrigation intervals for beta- amylase activity, root length and 1000-seed weight of *Nigella sativa* L

فواصل آبیاری (تخلیه رطوبتی) Irrigation intervals (Available moisture depletion)	بتا آمیلاز Beta- amylase ($\mu moles.ml^{-1}.min^{-1}$)	طول ریشه‌چه Root length (cm)	وزن هزار دانه 1000-Seed weight (g)
25 %	0.503 a	4.56 a	2.29 a
50 %	0.481 a	4.28 ab	2.23 ab
75 %	0.445 b	3.87 b	2.05 b

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، حروف مختلف هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار هستند.

Different letters indicate significant differences based on Duncan's multiple range tests in each column.

جدول ۵- مقایسه میانگین منابع کودی روی فعالیت بتا آمیلاز، طول ریشه‌چه و وزن هزار دانه سیاه‌دانه

Table 5- Mean comparison of fertilizer sources for beta- amylase activity, root length and 1000-seed weight of *Nigella sativa* L

منابع کودی Fertilizer sources	بتا آمیلاز Beta- amylase ($\mu moles.ml^{-1}.min^{-1}$)	طول ریشه‌چه Root length (cm)	وزن هزار دانه 1000-Seed weight (g)
100 % S	0.463 bc	4.32 b	2.25 abc
50 % S+Thiobacillus	0.460 cd	4.14 d	2.15 cd
50 % S+AMF	0.492 ab	4.60 a	2.28 ab
50 % S+Thiobacillus+AMF	0.510 a	4.61 a	2.34 a
Thiobacillus	0.458 cd	3.79 cd	2.08 de
AMF	0.497 a	4.31 b	2.16 bcd
Thiobacillus+AMF	0.500 a	4.36 ab	2.21 bc
Control	0.430 d	3.77 c	2.03 e

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، حروف مختلف هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار هستند.

Different letters indicate significant differences based on Duncan's multiple range tests in each column.

In Press

درصد و سرعت جوانه‌زنی

درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر سیاه دانه تحت تاثیر فواصل آبیاری و منابع کودی قرار گرفت، همچنین اثر برهم‌کنش عوامل آزمایش روی درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر معنی‌داری بود (جدول ۲). در آبیاری ۲۵ درصد تخلیه رطوبتی، اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف کودی مشاهده نشد (جدول ۳). همچنین مصرف قارچ مایکوریزا به تنهایی و یا در تلفیق با مصرف ۵۰ درصد گوگرد و تیوباسیلوس سبب کاهش هدایت الکتریکی بذر نسبت به شاهد شد. در آبیاری ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی، بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا+ تیوباسیلوس مشاهده شد که نسبت به مصرف به تنهایی قارچ مایکوریزا و یا در تلفیق با ۵۰ درصد گوگرد و تیوباسیلوس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب افزایش درصد جوانه زنی در مقایسه با شاهد شد، اما با تیمارهای ۵۰ درصد گوگرد+ قارچ مایکوریزا و تیوباسیلوس+ قارچ مایکوریزا تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

در سطح آبیاری ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی، سرعت جوانه‌زنی بذر در تیمار تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا در مقایسه با شاهد به ترتیب افزایش ۳۷ و ۴۱ درصدی نشان داد (جدول ۶). همچنین تیمار ۱۰۰ درصد گوگرد و مصرف به تنهایی و تلفیق دوگانه مایکوریزا و تیوباسیلوس سبب افزایش فعالیت معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی شد. از سوی دیگر در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب افزایش ۳۵ درصدی سرعت جوانه‌زنی بذر نسبت به شاهد شد (جدول ۶).

کیفیت بذر و قدرت جوانه‌زنی توسط خصوصیات توارثی و

محیط گیاه مادری که بذر در آن توسعه یافته تعیین می شود (Rajjou et al., 2012). عدم شرایط مطلوب محیطی منجر به کاهش قدرت جنین و در نهایت کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر می‌شود (Dornbos, 2020). محققان کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی را ناشی از جذب کمتر آب توسط گیاه مادری و در نهایت بذر گزارش کردند (Hamidi et al., 2016). قارچ مایکوریزا می توانند از طریق ایجاد تعادل در سطح آنزیم ها و تنظیم کننده های رشد باعث بهبود مولفه های جوانه زنی گردند (Chakraborty et al., 2023). بنابراین استفاده از قارچ مایکوریزا به طور قابل توجهی باعث افزایش بهبود رشد گیاه و شاخص جوانه‌زنی بذر تولیدی می‌شود (Attarzadeh et al., 2019). همچنین استفاده از گوگرد برای فعال کردن سیستم دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی اهمیت بسزایی دارد و سبب بهبود رشد در گیاه مادری می شود (Sehar et al., 2021; Mirzaie et al., 2023).

جدول ۶- مقایسه میانگین برهمکنش فواصل آبیاری و منابع کودی روی سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و بنیه بذر سیاه‌دانه

Table 6- Mean comparison interaction of irrigation intervals and fertilizer sources for germination rate, stem length, seedling dry weight and seed vigor of *Nigella sativa* L

فواصل آبیاری (تخلیه رطوبتی) Irrigation intervals (Available moisture depletion)	منابع کودی Fertilizer sources	سرعت جوانه‌زنی Germination rate (per day)	طول ساقه‌چه Stem length (cm)	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight (g)	بنیه بذر Seed vigor
25 %	100 % S	0.443 a	4.09 ab	3.78 a	3.86 ab
	50 % S+Thiobacillus	0.406 b	3.64 bc	3.67 ab	3.48 bc
	50 % S+AMF	0.462 a	3.96 ab	3.83 a	3.97 ab
	50 % S+Thiobacillus+AMF	0.481 a	4.24 a	3.93 a	4.25 a
	Thiobacillus	0.400 b	3.55 bc	3.70 ab	3.14 c
	AMF	0.453 a	4.09 ab	3.68 ab	4.17 a
	Thiobacillus+AMF	0.463 a	4.08 ab	3.75 ab	4.21 a
	Control	0.350 c	3.40 c	3.39 c	3.23 c
50 %	100 % S	0.426 ab	3.84 ab	3.32 b	3.46 b
	50 % S+Thiobacillus	0.410 ab	3.65 b	3.47 ab	3.26 b
	50 % S+AMF	0.446 a	3.94 ab	3.51 ab	3.91 a
	50 % S+Thiobacillus+AMF	0.456 a	4.14 a	3.70 a	3.95 a
	Thiobacillus	0.387 b	3.21 c	3.36 b	2.93 c
	AMF	0.412 ab	3.76 ab	3.48 ab	3.53 b
	Thiobacillus+AMF	0.413 ab	3.77 ab	3.50 ab	3.54 ab
	Control	0.323 c	3.20 c	2.99 c	2.86 c
75 %	100 % S	0.391 ab	3.34 abc	3.13 ab	2.77 bc
	50 % S+Thiobacillus	0.363 bc	3.13 c	3.18 ab	2.62 cd
	50 % S+AMF	0.366 ab	3.64 ab	2.85 bc	3.32 a
	50 % S+Thiobacillus+AMF	0.412 a	3.77 a	3.41 a	3.35 a
	Thiobacillus	0.351 c	2.92 c	2.79 bc	2.36 d
	AMF	0.382 abc	3.27 c	3.21 ab	2.83 bc
	Thiobacillus+AMF	0.400 a	3.37 abc	3.23 ab	3.07 ab
	Control	0.306 d	2.94 c	2.53 c	2.30 d

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، حروف مختلف هر ستون نمایانگر تفاوت معنی‌دار هستند.

Different letters indicate significant differences based on Duncan's multiple range tests in each column.

طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه

طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه تحت تاثیر فواصل آبیاری و منابع کودی قرار گرفت، همچنین اثر برهم‌کنش عوامل آزمایش روی طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه معنی‌داری بود (جدول ۲). طول ریشه‌چه با افزایش فواصل آبیاری کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۴). همچنین

افزایش ۲۲ درصدی طول ریشه‌چه در تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین مصرف قارچ مایکوریزا در تلفیق با تیوباسیلوس و یا ۵۰ درصد گوگرد سبب افزایش معنی‌دار طول ریشه‌چه شد. (جدول ۵).

در سطح آبیاری ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی، طول ساقه‌چه در تیمار تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا در مقایسه با شاهد به ترتیب افزایش ۲۵ و ۲۹ درصدی نشان داد (جدول ۶). همچنین تیمار ۱۰۰ درصد گوگرد و مصرف قارچ مایکوریزا در تلفیق با تیوباسیلوس و یا ۵۰ درصد گوگرد سبب افزایش فعالیت معنی‌دار طول ساقه‌چه شد. در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، بیش‌ترین طول ساقه‌چه در تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا مشاهده شد (جدول ۶).

وزن خشک گیاهچه با افزایش فواصل آبیاری کاهش معنی‌داری نشان داد و در سطوح آبیاری ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی استفاده از ترکیبات مختلف کودی سبب افزایش وزن خشک گیاهچه در مقایسه با شاهد شد (جدول ۶). همچنین در سطح آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، بیش‌ترین وزن خشک گیاهچه به مزان ۳/۴۱ گرم در تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا مشاهده شد (جدول ۶).

فواصل آبیاری ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی به دلیل تحرک کم عناصر غذایی و انتقال کمتر آنها به سمت بذر سبب کاهش انرژی ذخیره‌ای بذر شده که در نتیجه سبب کاهش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه گردیده است. محققان گزارش کردند که تنش خشکی از طریق اختلال در جذب آب در مراحل مختلف رشد باعث کاهش و یا عدم انتقال مواد غذایی به در مراحل مختلف رسیدگی بذر شده که در نهایت منجر به تولید گیاهچه‌های ضعیف می‌گردد (Hosseini et al., 2020). از سوی دیگر گزارش شده است که استفاده از قارچ مایکوریزا از طریق جذب بیشتر عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر توسط گیاه مادری سبب بهبود رشد بذر شده است (Attarzadeh et al., 2019). قارچ مایکوریزا، مقدار اکسین و سیتوکینین را در شرایط تنش‌های محیطی در گیاه افزایش می‌دهند و سبب رشد بهتر گیاهچه نسبت به شاهد می‌شوند (Liu et al., 2023b). هم‌چنین گزارش شده است که مصرف گوگرد و یا باکتری تیوباسیلوس باعث افزایش انحلال فسفر خاک و دسترس قرار گرفتن عناصر ریز مغذی در خاک می‌شود (Seifi & Souri, 2021). بنابراین افزایش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و بالاتر بودن وزن خشک گیاهچه سیاه دانه در تیمار ۱۰۰ درصد گوگرد و مصرف قارچ مایکوریزا در تلفیق با تیوباسیلوس تاییدی بر این مدعاست.

بنیه بذر و وزن هزار دانه

فواصل آبیاری و منابع کودی، بنیه بذر و وزن هزار دانه را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد، اما اثر برهم‌کنش عوامل آزمایش فقط روی بنیه بذر معنی‌داری بود (جدول ۲). در آبیاری ۲۵ درصد تخلیه رطوبتی، تیمار ۱۰۰ درصد گوگرد و مصرف قارچ مایکوریزا به تنهایی و یا در تلفیق با تیوباسیلوس و ۵۰ درصد گوگرد سبب افزایش فعالیت معنی‌دار بنیه بذر شد (جدول ۶). در آبیاری ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی، بیش‌ترین بنیه بذر در تیمار ۵۰ درصد گوگرد+ مایکوریزا+ تیوباسیلوس مشاهده شد که نسبت به قارچ مایکوریزا در تلفیق با ۵۰ درصد گوگرد و تیوباسیلوس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در آبیاری ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا سبب افزایش ۴۶ درصدی بنیه بذر در مقایسه با شاهد شد، اما با تیمارهای ۵۰ درصد گوگرد+ قارچ مایکوریزا و تیوباسیلوس+ قارچ مایکوریزا تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۶).

وزن هزار دانه با افزایش فواصل آبیاری کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۴). از سوی دیگر افزایش ۱۵ درصدی وزن هزار دانه در تلفیق ۵۰ درصد گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین مصرف ۱۰۰ درصد گوگرد و ۵۰ درصد گوگرد+ قارچ مایکوریزا سبب افزایش معنی‌دار وزن هزار دانه شد (جدول ۵).

افزایش فواصل آبیاری به ویژه آبیاری پس از ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی منجر به تولید بذوری با کیفیت پایین می‌گردد. کاهش ضخامت پوسته بذر و افزایش نفوذپذیری غشا سلولی در اثر تنش خشکی روی گیاه مادری بوجود آمده و در نتیجه سبب کاهش بنیه بذر گیاهان می‌گردد (Atarod et al., 2012). گزارش شده است که واکنش متفاوت بذرهای گیاهان در شرایط تنش‌های مختلف محیطی به دلیل عوامل مختلفی از جمله تغییر در

In Press

خصوصیات فیزیولوژیکی می‌باشد (Li et al., 2010). از سوی دیگر همزیستی با ترکیبات زیستی مثل قارچ مایکوریزا به همراه تیوباسیلوس ممکن است به دلیل تاثیر روی تنظیم کننده های رشد نقش بسزایی در میزان فعالیت آنزیمی داشته باشد و بنابراین بنیه و کیفیت بذر را تحت تنش‌های محیطی تا حدودی بهبود می‌بخشد (Jabborova et al., 2021). استفاده از قارچ مایکوریزا به همراه تیوباسیلوس با بهبود وضعیت جذب عناصر غذایی و توانایی بیشتر در افزایش تولید مواد فتوسنتزی سبب بهبود وزن هزار دانه می گردد (Mohamed et al., 2014).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی سبب ایجاد اختلال در یکپارچگی غشای سلول و افزایش نشت یونی سلولی بذر شده است. از سوی دیگر، تیمارهای تلفیق گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش خشکی دارند. احتمالا این تاثیرات پیچیده هستند و از طریق جذب آب و عناصر غذایی، تنظیم اسمزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های موثر در پاسخ به تنش خشکی اعمال می گردند. تلفیق گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا با کاهش هدایت الکتریکی بذر و افزایش پروتئین محلول سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی شده است. همچنین استفاده از منابع کودی گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا بر فعالیت آنزیم‌های موثر در جوانه‌زنی بذر مثل آلفا و بتا آمیلاز تاثیر مثبت داشت. می‌توان بیان کرد که استفاده منفرد از منابع کودی تاثیر کمی روی بهبود جوانه‌زنی و بنیه بذر داشت، زیرا که عمدتاً هم ردیف شاهد بود. ولی تأثیر مثبت گوگرد+ تیوباسیلوس+ مایکوریزا روی رشد گیاه مادری و به‌دنبال آن بهبود کیفیت بذرهای تولیدی در سیاه دانه در شرایط تنش خشکی یک نتیجه موفقیت‌آمیز بود. احتمالا بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر سیاه دانه در فواصل مختلف آبیاری اساساً با بخشی از مکانیسم‌های موجود در گیاه مادری در ارتباط بوده است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا و مرکز تحقیقات کشاورزی فارس که صمیمانه ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر می‌نماییم.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافعی در رابطه با نگارش و یا انتشار این مقاله ندارند.

References

Ansori, A., & Gholami, A. (2015). Improved nutrient uptake and growth of maize in response to inoculation with Thiobacillus and mycorrhiza on an alkaline soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *46*(17), 2111-2126. https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1048251

Asadi Rahmani, H., Khavazi, K., Jahandideh Mahjen Abadi, V., Ramezanpour, M., Mirzapour, M., & Mirzashahi, K. (2018). Effect of Thiobacillus, sulfur, and phosphorus on the yield and nutrient uptake of canola and the chemical properties of calcareous soils in Iran. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *49*(14), 1671-1683. https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1474905

Atarod, H., Irannejad, H., Shirani Rad, A. H., Amiri, R., & Akbari, G. (2011). Assessment of drought stress and planting date effects on original plant and its seed electrical conductivity rate. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *9*(2), 242-247. https://doi.org/10.22067/gsc.v9i2.10999 [In Persian]

Attarzadeh, M., Balouchi, H., Dehnavi, M., Salehi, A., & Rajaie, M. (2019). Response of germination and electrical conductivity of seeds produced by Echinacea purpurea's mother plants under the influence of biological fertilizers and drought stress. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, *18*(1), 185-200. https://doi.org/10.22034/ijsst.2019.115796.1141 [In Persian]

Bakhshandeh, E., & Jamali, M. (2020). Population-based threshold models: A reliable tool for describing aged seeds response of rapeseed under salinity and water stress. *Environmental and Experimental Botany*, *176*, 104077. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104077

Bayati, P., Karimmojeni, H., Razmjoo, J., Pucci, M., Abate, G., Baldwin, T. C., & Mastinu, A. (2022). Physiological, biochemical, and agronomic trait responses of Nigella sativa genotypes to water stress. *Horticulturae*, *8*(2), 193. https://doi.org/10.3390/horticulturae8030193

Ben Laouane, R., Meddich, A., Bechtaoui, N., Oufdou, K., & Wahbi, S. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia symbiosis on the tolerance of Medicago sativa to salt stress. *Gesunde Pflanzen, 71*(2), 135-146. https://doi.org/10.1007/s10343-019-00461-x

Bernfeld, P. (1955). Amylase α and β. In *Methods in Enzymology* (Vol. 1, pp. 149-158). Academic Press. http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5

Chakraborty, O., Agrawala, D. K., & Chakraborty, A. P. (2023). Studies on orchidoid mycorrhizae and mycobionts associated with orchid plants as plant growth promoters and stimulators in seed germination. In P. Mathur, R. Kapoor, & S. Roy (Eds.), *Microbial Symbionts and Plant Health: Trends and Applications for Changing Climate* (pp. 439-463). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-99-0030-5_16

Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., & Attia, H. (2007). Nigella sativa L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry, 101*, 673-681. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.022

Copeland, L. O., & McDonald, M. B. (2001). Seed vigor and vigor tests. In L. O. Copeland & M. B. McDonald (Eds.), *Principles of seed science and technology* (4th ed., pp. 121-144). Kluwer Academic Publishing Group.

Dean, J. A. (1985). *Legends handbook of chemistry*. CRC Press.

Dornbos, D. L. (2020). Production environment and seed quality. In *Seed quality* (pp. 119-152). CRC Press.

Gimbi, D. M., & Kitabatake, N. (2002). Changes in alpha- and beta-amylase activities during seed germination of African finger millet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition, 53*(6), 481-488. https://doi.org/10.1080/09637480220164361

Hamidi, A., Daneshian, J., & Asgharzadeh, A. (2016). A review of drought stress on mother plant effect on soybean seed germination and vigour improvement by some beneficial soil microorganisms treatment assessment. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 3*(2), 109-124. https://doi.org/10.1001.1.24763780.1395.3.2.10.6 [In Persian]

Heydari, S., & Pirzad, A. (2020). Mycorrhizal fungi and Thiobacillus co-inoculation improve the physiological indices of *Lallemantia iberica* under salinity stress. *Current Microbiology, 77*(9), 2523-2534. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02034-y

Heydari, S., & Pirzad, A. (2021). Improvement of the yield-related response of mycorrhized *Lallemantia iberica* to salinity through sulfur-oxidizing bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 101*(9), 3758-3766. https://doi.org/10.1002/jsfa.11007

Hosseini, P., Mohsenifar, K., Rajaie, M., & Babaeinezhad, T. (2020). Improvement and regeneration of canola seeds (*Brassica napus*) with growth-promoting compounds under different irrigation intervals. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 7*(4), 463-475. https://doi.org/10.22124/jms.2020.4643 [In Persian]

Hosseini, S. S., Nadjafi, F., Asareh, M. H., & Rezadoost, H. (2018). Morphological and yield-related traits, essential oil, and oil production of different landraces of black cumin (*Nigella sativa*) in Iran. *Scientia Horticulturae, 233*, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.038

Igiehon, N. O., Babalola, O. O., Cheseto, X., & Torto, B. (2021). Effects of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi on yield, size distribution, and fatty acid of soybean seeds grown under drought stress. *Microbiological Research, 242*, 126640. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126640

Ijaz, H., Tulain, U. R., Qureshi, J., Danish, Z., Musayab, S., Akhtar, M. F., Saleem, A., Khan, K. A.-U.-R., Zaman, M., & Waheed, I. (2017). Nigella sativa (Prophetic Medicine): A review. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 30*(1), 229-234.

International Seed Testing Association (ISTA). (2003). *Handbook for seedling evaluation* (3rd ed.). International Seed Testing Association.

Jabborova, D., Annapurna, K., Paul, S., Kumar, S., Saad, H. A., Desouky, S., Ibrahim, M. F., & Elkelish, A. (2021). Beneficial features of biochar and arbuscular mycorrhiza for improving spinach plant growth, root morphological traits, physiological properties, and soil enzymatic activities. *Journal of Fungi, 7*(7), 571. https://doi.org/10.3390/jof7070571

Kazemi, M. (2014). Phytochemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activity of *Nigella sativa* L. essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17*(5), 1002-1011. https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857

Li, G., Wan, S., Zhou, J., Yang, Z., & Qin, P. (2010). Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde, and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. *Industrial Crops and Products, 31*(1), 13-19. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.015

Liu, R., Chang, D., Sun, Z., Wu, Y., Zhang, X., Lu, C., Mao, Y., Chen, J., & Cai, B. (2023a). Effect of *Funneliformis mosseae* and *Thiabacillus thioparus* on sulfur utilization in soybean sterilized soil under continuous cropping. *Plant and Soil, 490*(1-2), 1-14. https://doi.org/10.1007/s11104-023-06081-9

Liu, R., Yang, L., Zou, Y., & Wu, Q. (2023b). Root-associated endophytic fungi modulate endogenous auxin and cytokinin levels to improve plant biomass and root morphology of trifoliate orange. *Horticultural Plant Journal, 9*(3), 463-472. https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.08.009

In Press

Maguire, J. D. (1962). Speed of germination: Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, *2*, 176-177. https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x

Majeed, A., Muhammad, Z., Ahmad, H., Hayat, S. S. S., Inayat, N., & Siyyar, S. (2020). *Nigella sativa* L.: Uses in traditional and contemporary medicines—An overview. *Acta Ecologica Sinica*. https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2020.02.001

Mangal, V., Lal, M. K., Tiwari, R. K., Altaf, M. A., Sood, S., Kumar, D., Bharadwaj, V., Singh, B., Singh, R. K., & Aftab, T. (2022). Molecular insights into the role of reactive oxygen, nitrogen, and sulfur species in conferring salinity stress tolerance in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, *42*(2), 554-574. https://doi.org/10.1007/s00344-022-10591-8

Mirzaie, H., Shekari, F., Fotovat, R., & Amir Delavar, M. (2023). Evaluation of growth of corn in the vegetative stage under contaminated soil conditions by applying sulfur-containing compounds and Thiobacillus bacteria. *Journal of Crops Improvement*, *25*(4), 1055-1069. https://doi.org/10.22059/jci.2023.355626.2794 [In Persian]

Mishra, P., Mishra, J., & Arora, N. K. (2021). Plant growth-promoting bacteria for combating salinity stress in plants: Recent developments and prospects—a review. *Microbiological Research*, *252*, 126861. https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126861

Miura, C., Furui, Y., Yamamoto, T., Kanno, Y., Honjo, M., Yamaguchi, K., Suetsugu, K., Yagame, T., Seo, M., & Shigenobu, S. (2023). Auto-activation of mycorrhizal symbiosis signaling through gibberellin deactivation in orchid seed germination. *Plant Physiology*, *194*(1), 546-563. https://doi.org/10.1093/plphys/kiad517

Mohamed, A. A., Eweda, W. E., Heggo, A., & Hassan, E. A. (2014). Effect of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and sulfur-oxidizing bacteria on onion (*Allium cepa* L.) and maize (*Zea mays* L.) grown in sandy soil under greenhouse conditions. *Annals of Agricultural Sciences*, *59*(1), 109-118. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.06.015

Morales-Cedillo, F., Gonzalez-Solis, A., Gutiérrez-Angoa, L., Cano-Ramírez, D. L., & Gavilanes-Ruiz, M. (2015). Plant lipid environment and membrane enzymes: The case of the plasma membrane H+-ATPase. *Plant Cell Reports*, *34*(4), 617-629. https://doi.org/10.1007/s00299-014-1735-z

Mostafavian, S., Pirdashti, H., Ramzanpour, M., Andarkhor, A., & Shahsavari, A. (2008). Effect of mycorrhizae, Thiobacillus, and sulfur nutrition on the chemical composition of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seed. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *11*(6), 826-835. https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.826.835

Nichols, M. A., & Heydecker, W. (1986). Two approaches to the study of germination date. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, *33*, 531-540.

Poonia, S. (2019). Studies on alpha-amylase activity in germinating seeds of four leguminous crops in response to sulfur dioxide. *Biotech Today*, *9*(5), 51-53. https://doi.org/10.5958/2322-0996.2019.00021.8

Rajjou, L., Duval, M., Gallardo, K., Catusse, J., Bally, J., Job, C., & Job, D. (2012). Seed germination and vigor. *Annual Review of Plant Biology*, *63*, 507-533.

Reed, R. C., Bradford, K. J., & Khanday, I. (2022). Seed germination and vigor: Ensuring crop sustainability in a changing climate. *Heredity*, *1-10*. https://doi.org/10.1038/s41437-022-00497-2

Saha, D., Choyal, P., Mishra, U. N., Dey, P., Bose, B., Prathibha, M., Gupta, N. K., Mehta, B. K., Kumar, P., & Pandey, S. (2022). Drought stress responses and inducing tolerance by seed priming approach in plants. *Plant Stress*, *4*, 100066. https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100066

Sakin, E., & Yanardağ, İ. H. (2023). The influence of micronized sulfur amendments on the chemical properties of the calcareous soil and wheat growth. *Journal of Plant Nutrition*, *46*(3), 1-10. https://doi.org/10.1080/01904167.2022.2161393

Sehar, Z., Jahan, B., Masood, A., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2021). Hydrogen peroxide potentiates defense system in presence of sulfur to protect chloroplast damage and photosynthesis of wheat under drought stress. *Physiologia Plantarum*, *172*(2), 922-934. https://doi.org/10.1111/ppl.13225

Seifi, S., & Souri, B. (2021). Modification of calcareous soil with sulfur to improve tomato yield and nutrition. *Journal of Soil and Plant Interactions, Isfahan University of Technology*, *12*(3), 87-99. https://doi.org/10.47176/jspi.12.3.20361

Seyyedi, S. M., Moghaddam, P. R., Khajeh-Hosseini, M., & Shahandeh, H. (2015). Influence of phosphorus and soil amendments on black seed (*Nigella sativa* L.) oil yield and nutrient uptake. *Industrial Crops and Products*, *77*, 167-174. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.065

Shah, S. H., Islam, S., & Mohammad, F. (2022). Sulfur as a dynamic mineral element for plants: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *22*, 2118-2143. https://doi.org/10.1007/s42729-022-00798-9

Sheteiwy, M. S., Abd Elgawad, H., Xiong, Y. C., Macovei, A., Brestic, M., Skalicky, M., Shaghaleh, H., Alhaj Hamoud, Y., & El-Sawah, A. M. (2021). Inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens* and mycorrhiza confers tolerance to drought stress and improves seed yield and quality of soybean plants. *Physiologia Plantarum*, *172*(6), 2153-2169. https://doi.org/10.1111/ppl.13454

Wipf, D., Mongelard, G., Van Tuinen, D., Gutierrez, L., & Casieri, L. (2014). Transcriptional responses of *Medicago truncatula* upon sulfur deficiency stress and arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Frontiers in Plant Science*, *5*, 680. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00680

Yigit, N., Sevik, H., Cetin, M., & Kaya, N. (2016). Determination of the effect of drought stress on seed germination in some plant species. *Water Stress in Plants*, *43*, 62.

In Press