نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۸، شماره۵ ، آذر - دی ۱۳۸۹، ص ۷۶۶-۷۵۸

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 8, No. 5, Nov. – Dec. 2010, p. 758-766

اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)

سرور خرم‌دل[1*]- علیرضا کوچکی[2]- مهدی نصیری محلاتی [3] - رضا قربانی[4]

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱
تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۹

چکیده

کاربرد کودهای بیولوژیک، از جمله راهبردهای تغذیه گیاه برای نیل به اهداف کشاورزی اکولوژیک است. به منظور مطالعه اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) آزمایشی در سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: (A) ازتوباکتر، (B) آزوسپیریلوم، (C) میکوریزا، تیمارهای ترکیبی A+C، B+C، B+A، C+B+A و شاهد بودند. مقدار ۱۵ میلی‌گرم از هر مایه تلقیحی برای ۱۱۰ گرم بذر به ازای هر تیمار و به صورت تلقیح قبل از کاشت به کار برده شد. نتایج بررسی‌ها حاکی از آن بود که تلقیح با کودهای بیولوژیک منجر به افزایش معنی‌دار اجزای عملکرد، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیکی و کاهش درصد کپسول پوک در بوته گردید و در این میان تیمار ترکیبی آزوسپیریلوم و میکوریزا و پس از آن تیمار ترکیبی سه‌گانه بیشترین تأثیر را در افزایش صفات مورد مطالعه داشتند. بیشترین و کمترین عملکرد دانه به ترتیب در تیمار ترکیبی B+C با ۴۱/۴ گرم در متر مربع و شاهد با ۲۴/۱ گرم در متر مربع بدست آمد. نتایج همبستگی بین اجزای عملکرد و عملکرد بیانگر آن بود که بین تعداد کپسول در بوته و عملکرد دانه همبستگی معنی‌داری وجود نداشت، ولی بین سایر اجزای عملکرد با عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. بنابراین چنین به نظر می‌رسد که کاربرد کودهای بیولوژیک مناسب، می‌تواند در افزایش عملکرد و اجزای عملکرد سیاهدانه موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: کود بیولوژیک، کشاورزی اکولوژیک، گیاه دارویی، باکتری‌های محرک رشد

مقدمه

در دهه‌های اخیر، تولید محصولات کشاورزی عمدتاً متکی بر مصرف نهاده‌های شیمیایی بوده که این امر منجر به بروز مشکلات زیست محیطی شده است. یکی از راه های رفع این مشکل، اعمال راهکارهایی مبتنی بر استفاده از اصول درازمدت کشاورزی اکولوژیک در بوم‌نظام‌های زراعی می‌باشد.

کشاورزی اکولوژیک، یک نظام تلفیقی مبتنی بر اصول اکولوژیک می‌باشد. در این نظام به جای استفاده از نهاده‌های خارجی نظیر انواع کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها از تناوب زراعی با بقولات، بقایای گیاهی، انواع کودهای دامی، آلی و بیولوژیک استفاده می‌شود تا ضمن ذخیره مواد غذایی در خاک، علف‌های هرز و آفات، کنترل شده (۱۷) و تنوع زیستی در مزارع افزایش یابد (۱۳).

کاربرد کودهای بیولوژیک، از جمله راهبردهای تغذیه گیاه برای نیل به اهداف کشاورزی اکولوژیک است (۲۳ و ۳۴). اصطلاح کودهای بیولوژیک منحصراً به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی، کود سبز و غیره اطلاق نمی‌گردد، بلکه ریزموجودات باکتریایی و قارچی و مواد حاصل از فعالیت آن‌ها در رابطه با تثبیت نیتروژن، فراهمی فسفر و سایر عناصر غذایی از جمله مهمترین کودهای بیولوژیک محسوب می‌گردند (۲۹). در بین ریز موجوداتی که توانایی همزیستی با گیاهان را دارند، می‌توان به انواع باکتری‌های محرک رشد و قارچ میکوریزا اشاره کرد. از مهمترین باکتری‌های محرک رشد که امروزه در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته‌اند می‌توان به جنس آزوسپیریلوم و ازتوباکتر اشاره کرد. از فواید همزیستی با این باکتری‌ها تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه (نظیر اکسین (۲۸)، جیبرلین (۴)، سیتوکینین (۷)، ترشح مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک و بیوتین (۲۱)، توسعهٔ سیستم ریشه‌ای، بهبود جذب آب و عناصر غذایی (۲۶) و تثبیت بیولوژیک نیتروژن (۱۹) اشاره کرد. قابل ذکر است که جذب این

۱، ۲، ۳، و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری زراعت، استاد، استاد و دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email:su_khorramdel@yahoo.com)

هورمون‌ها در حضور میکوریزا برای گیاه تسریع می‌گردد (۳).

میکوریزا نیز به عنوان جزء کلیدی در بوم نظام اثرات مثبتی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان همزیست دارد (۱۶ و ۱۸). افزایش سطح فعال سیستم ریشه گیاه برای جذب بهتر مواد غذایی از خاک، خصوصا در شرایط کمبود فسفر (۲۲)، افزایش فتوسنتز (۹)، افزایش مقاومت به تنش‌های خشکی، شوری و مقاومت به آفات و بیماری‌ها (۱۲،۱۴،۲۴ و ۳۱)، بهبود ساختمان خاک (۸) و تشدید فعالیت باکتری‌های ریزوبیوم و آزوسپیریلوم (۲) نمونه‌هایی از نقش این قارچ در بوم نظام‌های زراعی می‌باشد.

حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه با توجه به اصول کشاورزی اکولوژیک نقش مهمی در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی دارد. خرم‌دل و همکاران (۱) با بررسی اثر تلقیح با کودهای بیولوژیک نیتروژن و فسفر بر خصوصیات رشدی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) بیان داشتند که تلقیح باعث بهبود معنی‌دار کلیه خصوصیات رشدی سیاهدانه در مقایسه با شاهد شد، بطوریکه در ۸۲ روز پس از سبز شدن بیشترین و کمترین سرعت رشد گیاه به ترتیب برای تیمار ترکیبی آزوسپیریلوم و میکوریزا و شاهد (به ترتیب با ۱۴/۵ و ۵/۸ گرم بر متر مربع بر روز) بدست آمد. میگاهد و همکاران (۳۰) با بررسی اثر تلقیح ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum*) و آزوسپیریلوم (*Azospirillum lipoferum*) روی کرفس (*Apium graveolens*) به این نتیجه رسیدند که تلقیح با کودهای بیولوژیک باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع، تعداد شاخه جانبی، تعداد چتر، وزن خشک، عملکرد و محتوی نیتروژن، فسفر و پتاسیم گیاه در مقایسه با شاهد شد. تلان و همکاران (۳۶) طی تحقیقات خود روی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) اظهار داشتند که تلقیح با ازتوباکتر (*A. chroococcum*) موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع، تعداد شاخه جانبی، چتر، چترک و عملکرد دانه گیاه در مقایسه با شاهد گردید. در همین راستا، تحقیقات شالان (۳۴) نیز نشان داد که تلقیح بذر سیاهدانه با کودهای بیولوژیک نظیر آزوسپیریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه نظیر ارتفاع، تعداد شاخه جانبی، تعداد کپسول در گیاه و همچنین افزایش عملکرد دانه شد. کوپتا و همکاران (۹) گزارش کردند که تلقیح ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با سه گونه قارچ میکوریزا (*Gigaspora rosea* BEG 9, *Glomus mosseae* BEG 12, *Gigaspora margarita* BEG 34,) باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع ساقه، تعداد و سطح برگ، بیوماس، طول و میزان انشعابات جانبی ریشه و همچنین میزان اسانس گیاه در مقایسه با شاهد شد.

سیاهدانه گیاهی دارویی از خانواده آلاله[1]، یکساله و علفی می‌باشد (۱۵ و ۳۳). دانه‌های این گیاه حاوی ۴۰-۳۰ درصد روغن،۲۰ درصد پروتئین، ۷/۵ درصد رطوبت و ۱/۵-۰/۵ درصد اسانس است (۶ و ۱۰). علاوه بر خاصیت ضد باکتریایی دانه‌های سیاهدانه از این گیاه دارویی در درمان سرطان، فشارخون، بیماری‌های قلبی- عروقی و غیره استفاده می‌شود (۱۵).

از آنجا که تحقیقات اندکی در زمینه اثر کودهای بیولوژیک بر کمیّت و کیفیّت گیاهان دارویی از جمله سیاهدانه موجود می‌باشد، آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاهدانه در شرایط مشهد به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد واقع در ۱۰ کیلومتری شرق مشهد (طول جغرافیایی ۲۸'E ۵۹° ۵، عرض جغرافیایی ۱۵'N ۳۶° و ارتفاع ۹۸۵ متر) اجرا گردید. نتایج حاصل از تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده‌است.

تیمارهای آزمایش شامل: (A) ازتوباکتر (*Azotobacter paspali*)، (B) آزوسپیریلوم (*Azospirillum brasilense*)، (C) میکوریزا (*Glomus intraradaices*)، تیمارهای ترکیبی A+C، B+C، B+A و C+B+A و شاهد (بدون مصرف کودهای بیولوژیک) بودند. تلقیح بذرهای سیاهدانه با کودهای بیولوژیک در شرایط عدم وجود نور و قبل از کاشت صورت گرفت. بذرها به نحوی با مایه تلقیح باکتری مخلوط شدند تا یک پوشش کاملا یکنواخت روی سطح آن‌ها تشکیل شود. از صمغ عربی نیز برای چسبندگی بهتر بذرها با مایه تلقیح قارچ (با توجه به اینکه این مایه تلقیحی به شکل پودر می‌باشد) استفاده شد. در نهایت ۱۵ میلی‌گرم از هر مایه تلقیحی برای ۱۱۰ گرم بذر به ازای هر تیمار به جز شاهد به کار برده شد. بعد از کسب اطمینان کافی از اختلاط کامل بذرها با مایه‌های تلقیحی، آنها جهت خشک شدن به مدت یک ساعت در همان محل قرار گرفتند و بلافاصله پس از خشک شدن کامل بذرهای تلقیح شده، عملیات کاشت در کرتهایی به ابعاد ۳×۳ متر و با ایجاد شش پشته به فاصله روی ردیف و بین ردیف ۵ و۵۰ سانتیمتر در ۳۰ فروردین ماه با در نظر گرفتن تراکم ۲۰ بوته در متر مربع انجام گردید. اولین آبیاری پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی به فاصله هر هفت روز یکبار تا آخر فصل رشد به شیوه نشتی صورت گرفت. در ضمن به منظور جلوگیری از اختلاط اثر تیمارها، آبیاری کرت‌ها و بلوک‌ها به طور کاملا جداگانه انجام گردید.

عملیات برداشت گیاه در زمان زرد شدن برگ‌ها و کپسول‌ها انجام شد. بدین صورت که در هر کرت نمونه‌گیری از چهار ردیف وسط و پس از حذف اثرات حاشیه‌ای و در سطح ۰/۲ متر مربع انجام گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، اجزای عملکرد سیاهدانه (تعداد شاخه جانبی، تعداد کپسول در بوته، تعداد دانه در کپسول و وزن هزار دانه) و درصد کپسول پوک در بوته اندازه گیری شده و با تعیین

1- Ranunculaceae

عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی، شاخص برداشت گیاهان محاسبه گردید.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار MINITAB Ver 13 تجزیه شدند. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و نرم افزار MSTAT-C جهت مقایسه میانگین‌های هر تیمار استفاده شد. تعیین ضرایب همبستگی و رسم نمودارها نیز به ترتیب توسط نرم‌افزارهای SIGMA-STAT و EXCEL انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر کودهای بیولوژیک بر اجزای عملکرد سیاهدانه

همانگونه که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر تعداد شاخه جانبی تأثیر معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۱$) داشت.

همان طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود در بین تیمارهای مختلف کود بیولوژیک تیمار ترکیبی قارچ و آزوسپیریلوم بیشترین و شاهد کمترین تعداد شاخه جانبی را در بوته داشتند، البته بین تیمار شاهد با تیمارهای به صورت مصرف جداگانه و تیمار ترکیبی A+B تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در بین تیمارهای به صورت مصرف جداگانه نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی بیشترین تعداد شاخه در تیمار میکوریزا حاصل شد.

شالان (۳۴) نیز با بررسی اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر سیاهدانه اظهار داشت که تلقیح با آزوسپیریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس باعث افزایش تعداد شاخه جانبی می‌شود.

اثر تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر تعداد کپسول در بوته معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بود (جدول ۲). اگر چه در بین تیمارهای مختلف کود بیولوژیک به صورت جداگانه و ترکیبی (دوگانه و سه‌گانه) از نظر تعداد کپسول تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما در تلقیح دوگانه قارچ+آزوسپیریلوم و شاهد به ترتیب بیشترین (۱۰/۸) و کمترین (۶/۷) تعداد کپسول در بوته بدست آمد (جدول ۳).

جدول۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک محل آزمایش قبل از کاشت

بافت خاک	(ppm)			EC (dS/m)	pH
	پتاسیم	فسفر	نیتروژن		
لوم- سیلتی	۱۱۵	۹	۳۸۷	۱/۱۱	۸/۰۲

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) عملکرد، اجزای عملکرد و برخی از خصوصیات کمّی سیاهدانه در شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	تعداد شاخه جانبی	تعداد کپسول در بوته	تعداد دانه در کپسول	وزن هزار دانه	وزن دانه در بوته	درصد کپسول پوک در بوته	عملکرد بیولوژیکی	شاخص برداشت
تکرار	۲	۱۴/۹۶	۰/۰۷	۰/۹۰	۱/۸۸	۰/۰۳	۰/۶۸	۲/۷۳	۱۹۳/۸۵	۳/۳۴
تیمار	۷	۸۰/۴۵**	۱/۴۷**	۱/۷۹ ns	۵۹/۶۸**	۰/۰۸*	۰/۸۵**	۲۷/۷۸**	۵۱۳/۸۴**	۴۲/۴۲**
خطا	۱۴	۱۱/۹۶	۰/۲۱	۰/۸۰	۲/۸۰	۰/۰۲	۰/۱۷	۱/۲۸	۹۰/۵۴	۴/۰۸

ns بی‌معنی، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اجزای عملکرد سیاهدانه در شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک

تیمار	تعداد شاخه جانبی در بوته	تعداد کپسول در بوته	تعداد دانه در کپسول	وزن هزار دانه (گرم)
A: ازتوباکتر	۴/۱ c	۷/۷ ab*	۴۸/۷ c	۲/۲ b
B: آزوسپیریلوم	۴/۰ c	۷/۶ ab	۴۸/۰ c	۲/۲ b
C: میکوریزا	۴/۲ c	۷/۹ ab	۵۲/۰ b	۲/۳ b
A+ C	۵/۰ b	۸/۴ a	۵۶/۰ a	۲/۳ b
B+C	۵/۹ a	۱۰/۸ a	۵۸/۸ a	۲/۶ a
A+B	۴/۲ bc	۹/۲ ab	۵۵/۷ a	۲/۳ b
A+ B+C	۵/۰ b	۸/۲ a	۵۶/۷ a	۲/۳ b
شاهد	۳/۹ c	۶/۷ b	۴۷/۴ c	۲/۱ b

* در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حروف مشترک از نظر آماری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند ($p\leq ۰/۰۵$).

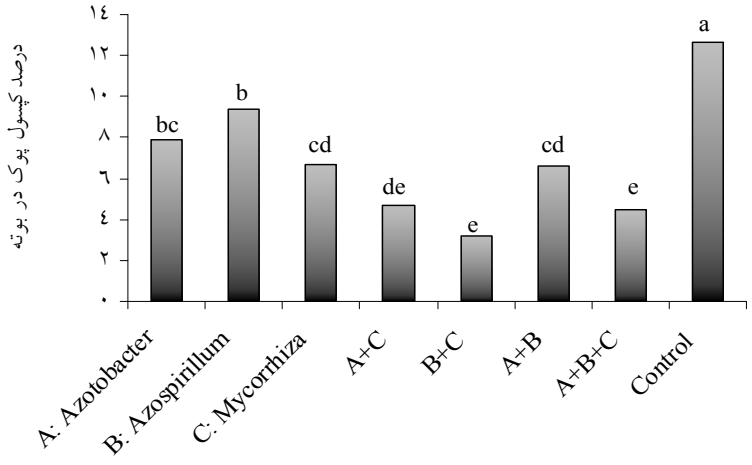
به نظر می‌رسد که همزیستی سیاهدانه با این میکروارگانیسم‌ها به دلیل تولید هورمون‌های محرک رشد و مواد بیولوژیکی فعال باعث افزایش رشد رویشی و به تبع آن تعداد شاخه جانبی و کپسول در بوته شده‌است (۳۴). در بین تیمارهای به صورت مصرف جداگانه نیز از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی بیشترین تعداد کپسول برای قارچ میکوریزا بود (جدول ۳). تعداد کپسول در گیاه یکی از اجزای مهم عملکرد می‌باشد، زیرا کپسول از یکطرف در برگیرنده تعداد دانه بوده و از طرف دیگر تأمین کننده مواد فتوسنتزی مورد نیاز برای دانه‌ها می‌باشد. لذا با توجه به همبستگی مثبت بین تعداد کپسول با عملکرد دانه ($r=۰/۴۰۳^{ns}$) تعداد کپسول بیشتر و به تبع آن افزایش تعداد دانه در بوته منجر به افزایش عملکرد گیاه می‌شود.

اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد و میکوریزا بر تعداد دانه در کپسول معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۲). اگر چه بین تیمارهای مختلف کود بیولوژیک به صورت ترکیبی از نظر تعداد دانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی بیشترین تعداد دانه در تیمار ترکیبی قارچ و آزوسپیریلوم بدست آمد. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تلقیح با کود بیولوژیک به صورت جداگانه وجود داشت، به طوری که بیشترین تعداد برای میکوریزا بدست آمد. همچنین ملاحظه می‌شود که تفاوت معنی‌داری بین تلقیح با کودهای بیولوژیک بصورت جداگانه و ترکیبی وجود دارد. کمترین تعداد دانه در کپسول در تیمار شاهد (۴۷/۴) بود (جدول ۳).

اگر چه نتایج بررسی‌های وو و زایا (۳۸) نشان داد که میکوریزا در افزایش فتوسنتز گیاه میزبان به طور مستقیم نقش موثری ندارد، ولی از طریق بهبود روابط آبی در سیستم متشکل از آب- خاک- گیاه و همچنین تغییر روابط هورمونی گیاه، سطح فتوسنتز گیاه میزبان را نسبت به گیاه شاهد افزایش می‌دهد. تعداد دانه در کپسول، در حقیقت ظرفیت مخزن گیاه را تعیین می‌کند و هر چه تعداد دانه بیشتر باشد، گیاه دارای مخزن بزرگتری برای دریافت مواد فتوسنتزی بوده و در نهایت افزایش این صفت منجر به افزایش عملکرد دانه خواهد شد. بنابراین، با توجه به همبستگی مثبت بین تعداد دانه در کپسول با عملکرد دانه ($r=۰/۷۰۴^{**}$)، افزایش تعداد دانه باعث افزایش عملکرد آن می‌شود.

تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر وزن هزار دانه تأثیر معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) داشت (جدول ۲). بیشترین وزن هزار دانه در تیمار دوگانه آزوسپیریلوم و میکوریزا با میزان ۲/۶ گرم به دست آمد، ولی بین سایر تیمارها از نظر آماری تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که در تلقیح با کودهای بیولوژیک به دلیل افزایش سرعت و مدت فتوسنتز (۹ و ۳۲)، راندمان انتقال مواد به دانه و تجمع ماده خشک افزایش یافته که این امر در نهایت منجر به افزایش وزن هزار دانه و عملکرد دانه شده‌است.

اثر تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر درصد کپسول پوک معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۲). بین تیمارهای مختلف ترکیبی از نظر درصد کپسول پوک تفاوت معنی‌داری حاصل شد، بطوریکه کمترین درصد در تیمار ترکیبی آزوسپیریلوم و میکوریزا با ۳/۱۹ درصد به دست آمد، که تفاوت معنی‌داری با تیمار ترکیبی A+C و تیمار ترکیبی سه‌گانه نداشت. بین تیمارهای تلقیح شده به صورت مصرف جداگانه کود بیولوژیک نیز کمترین درصد کپسول پوک برای میکوریزا با ۶/۶۷ درصد حاصل شد. بیشترین درصد کپسول پوک در تیمار شاهد با ۱۲/۶ درصد مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱- اثر کودهای بیولوژیک بر درصد کپسول پوک در سیاهدانه

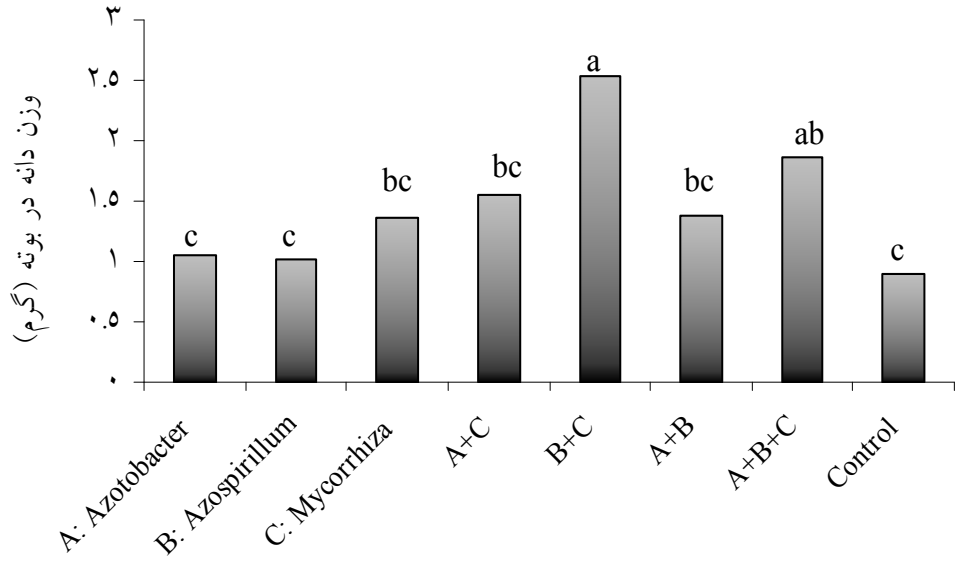
بدین ترتیب چنین به نظر می‌رسد که افزایش توانایی فتوسنتزی (۹،۳۲ و ۳۴) و به تبع آن پر شدن مخازن زایشی گیاه در پاسخ سیاهدانه به تلقیح با کودهای بیولوژیک باعث کاهش تعداد کپسول پوک در بوته شده‌است.

اثر تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر وزن دانه در بوته معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۲). اگرچه بین تیمارهای به صورت مصرف جداگانه کود بیولوژیک از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی بیشترین وزن دانه در بوته در تیمار میکوریزا با ۱/۴ گرم بدست آمد. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تلقیح با کودهای بیولوژیک به صورت ترکیبی وجود داشت، به طوریکه بیشترین وزن دانه در بوته برای تیمار دوگانه قارچ و آزوسپیریلوم با ۲/۵ گرم حاصل شد که با تیمار ترکیبی سه گانه تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین وزن دانه برای تیمار شاهد ۰/۹ گرم بدست آمد که با تیمارهای به صورت مصرف جداگانه و تیمارهای ترکیبی A+C و A+B از این نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۲).

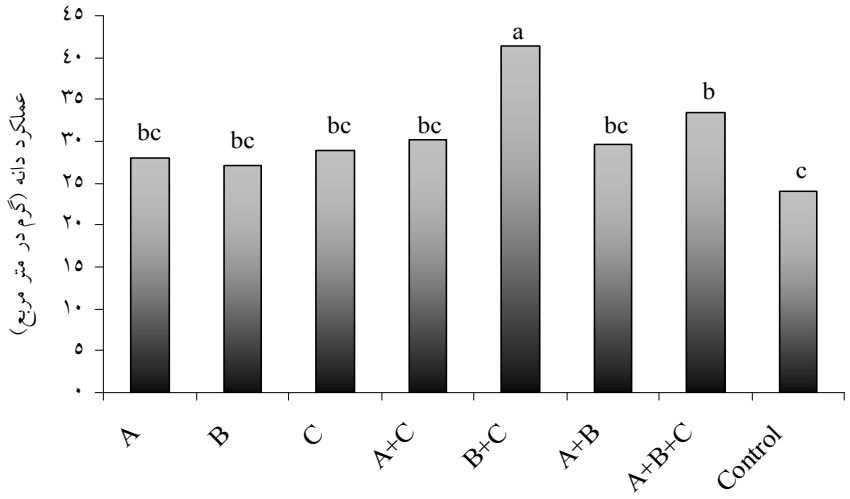
به طور کلی باکتری‌های تحریک کننده رشد گیاه قادر به تولید هورمون‌های اکسین (۲۸)، جیبرلین (۴)، سیتوکینین (۷) و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌هایB، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک و بیوتین (۲۱) بوده و در حضور میکوریزا جذب این هورمون‌ها توسط گیاه تسریع می‌گردد (۳). از آنجا که جیبرلین اصلی‌ترین هورمون تولید شده توسط آزوسپیریلوم است (۴) و تلقیح دوگانه این باکتری با میکوریزا باعث بهبود جذب این هورمون توسط گیاه می‌گردد (۳)، به نظر می‌رسد که در این تیمار سرعت و مدت فتوسنتز گیاه افزایش یافته که این امر در نهایت منجر به افزایش وزن دانه در بوته و در نهایت افزایش عملکرد دانه شده‌است.

اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد دانه سیاهدانه

اثر تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر عملکرد دانه معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۲). همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود بین تیمارهای ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، میکوریزا، تلقیح دوگانه (A+C و A+B) و تلقیح سه‌گانه کودهای بیولوژیک از نظر عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین میزان عملکرد دانه (۴۱/۴ گرم در متر مربع) در تیمار تلقیح دوگانه آزوسپیریلوم و میکوریزا حاصل شد. افزایش عملکرد دانه در تیمار قارچ و آزوسپیریلوم را می‌توان به برهم‌کنش مثبت بین میکوریزا و باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن نسبت داد. در همین راستا برخی از محققان (۲ و ۵) نیز وجود اثر متقابل بین قارچ میکوریزا و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن را بیان کرده‌اند. کمترین مقدار عملکرد دانه در تیمار شاهد (۲۴/۱ گرم در متر مربع) بدست آمد، که البته با تیمارهای به صورت مصرف جداگانه و تیمار ترکیبی A+C و A+B تفاوت معنی‌داری نداشت.



شکل ۲- اثر کودهای بیولوژیک بر وزن دانه سیاهدانه

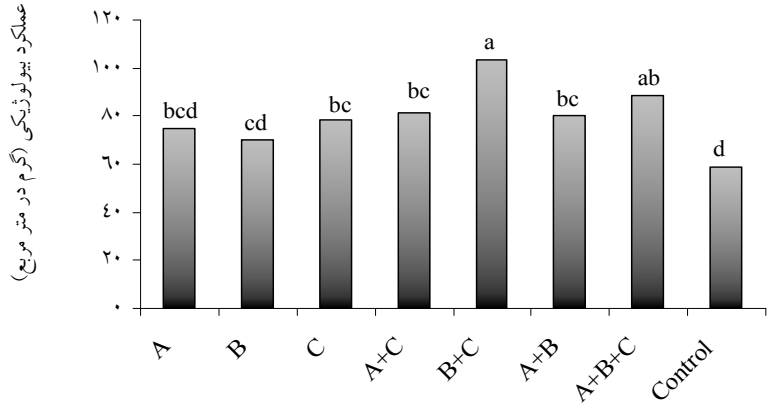


شکل ۳- اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد دانه سیاهدانه

از آنجا که تلقیح با کودهای بیولوژیک به دلیل توسعه سیستم ریشه‌ای (۲۷) باعث بهبود دسترسی و افزایش جذب عناصر غذایی (۲۵) و در نتیجه باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی در گیاه می‌شود، بنابراین چنین به نظر می‌رسد که افزایش عملکرد دانه در پاسخ سیاهدانه به تلقیح با این کودها، به دلیل فراهمی بیشتر عناصر غذایی برای بوته‌ها بوده که در نتیجه باعث افزایش تولید مواد فتوسنتزی برای دانه‌ها شده‌است. سوبرامانیان و کارست (۳۵) گزارش کردند که در شرایط تلقیح ذرت با میکوریزا (*Glomus intraradaices*) عملکرد دانه افزایش یافته و محتوی NPK، Mg، Mn و Zn در دانه گیاه تلقیح شده نسبت به شاهد بیشتر بود. در همین راستا واندبروک (۳۷)، دوبلیر (۱۱) و لمبرچت و همکاران (۲۸) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند.

اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد بیولوژیکی سیاهدانه

همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود اثر تلقیح سیاهدانه با کودهای بیولوژیک بر عملکرد بیولوژیکی معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود. اگر چه بین تیمارهای به صورت جداگانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴)، ولی بیشترین عملکرد در تیمار میکوریزا (۷۸/۳ گرم در متر مربع) بدست آمد. در مقابل، بین تیمارهای ترکیبی تلقیح با باکتری‌ها و قارچ همزیست تفاوت معنی‌دار بوده و تیمار آزوسپیریلوم و میکوریزا با ۱۰۳/۳ گرم در متر مربع بیشترین میزان عملکرد بیولوژیکی را به خود اختصاص داد که این میزان نسبت به شاهد ۷۵/۷ درصد افزایش یافت.



شکل ٤- اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد بیولوژیکی سیاهدانه

فراهم بودن آب و عناصر غذایی، رشد رویشی مطلوب گیاه را به دنبال داشته و شرط اساسی جهت تولید عملکرد بالا، تولید ماده خشک بیشتر در واحد سطح می‌باشد. نتایج حاصل از این آزمایش نیز نشان داد که تلقیح با کودهای بیولوژیک باعث افزایش تعداد شاخه جانبی و کپسول در بوته و در نتیجه منجر به افزایش عملکرد بیولوژیکی شد. کوپتا و همکاران (۹) در مطالعه خود عنوان کردند که زیست توده ریحان در شرایط تلقیح با سه گونه قارچ میکوریزا افزایش یافت. آن‌ها دلیل این امر را افزایش راندمان مصرف آب و بهبود جذب و دسترسی به عناصر غذایی برای گیاه تحت شرایط تلقیح با قارچ همزیست ذکر کردند.

اثر کودهای بیولوژیک بر شاخص برداشت سیاهدانه

اگر چه بین تیمارهای مختلف از نظر آماری تفاوت چندانی وجود نداشت، با این حال بیشترین و کمترین مقدار شاخص برداشت به ترتیب در تیمار آزوسپیریلوم (۴۳/۹ درصد) و میکوریزا (۳۲/۶ درصد) بدست آمد (شکل ۵). البته بین تیمار آزوسپیریلوم و تیمارهای ترکیبی A+B و B+C و شاهد و همچنین بین تیمار میکوریزا و ازتوباکتر از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

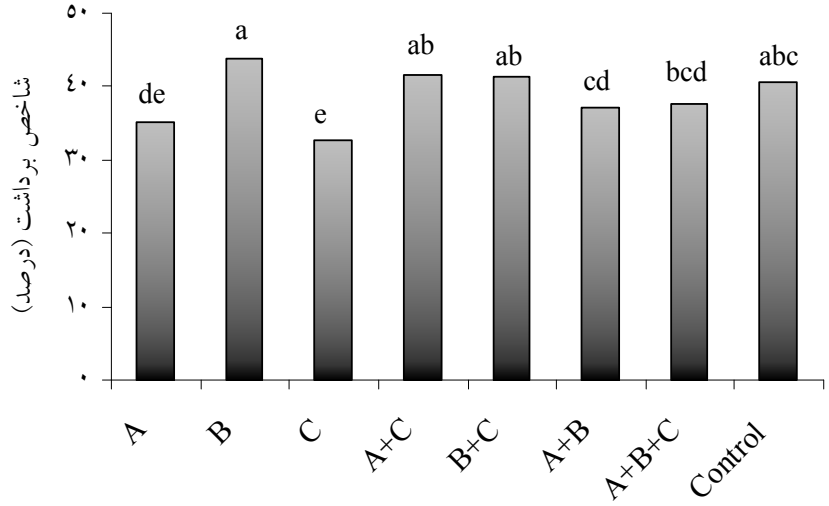
شاخص برداشت بیان کننده نسبت توزیع مواد فتوسنتزی بین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی می‌باشد. با توجه به اینکه بین تیمار میکوریزا و شاهد از نظر عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی از نظر عملکرد بیولوژیکی تفاوت معنی‌دار بود، بطوریکه تیمار تلقیح شده با قارچ دارای عملکرد بیولوژیکی بیشتری نسبت به شاهد (۳۳/۳ درصد) بود و بدین ترتیب چنین انتظار می‌رود که شاخص برداشت سیاهدانه در این تیمار نسبت به شاهد کمتر باشد. از طرف دیگر، جاکوبسن (۲۰) با بررسی اثر تلقیح میکوریزا روی نخودفرنگی (*Pisum sativum*) اظهار داشت که تلقیح باعث افزایش شاخص برداشت در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با شاهد شد.

ضرایب همبستگی عملکرد و اجزای عملکرد

همانگونه که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود همبستگی مثبت و معنی‌داری بین تعداد شاخه جانبی ($r=۰/۶۹۲^{**}$)، تعداد دانه در کپسول ($r=۰/۷۰۴^{**}$) و وزن هزار دانه ($r=۰/۷۱۴^{**}$) با عملکرد دانه و همبستگی مثبت تعداد کپسول در بوته ($r=۰/۴۰۳^{ns}$) با عملکرد دانه وجود داشت. بنابراین وجود رابطه مثبت بین اجزای عملکرد و عملکرد دانه نشان می‌دهد که افزایش اجزای عملکرد باعث افزایش عملکرد دانه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

از آنجا که جذب بهتر عناصر غذایی منوط به وجود سیستم ریشه‌ای گسترده است، چنین به نظر می‌رسد که عدم گسترش سیستم ریشه‌ای این گیاه و همچنین عدم استفاده از کودهای شیمیایی، زمینه را برای فعالیت میکروارگانیسم‌های مورد نظر فراهم کرده و این امر منجر به بهبود سیستم ریشه‌ای و متعاقبا جذب بهتر عناصر غذایی مورد نیاز برای گیاه شده است. در ضمن احتمالا بروز تنش خشکی در طول فصل رشد و همچنین کمبود فسفر، نیز مزایای حضور میکوریزا را پررنگ‌تر کرده است. به طور کلی نتایج این تحقیق حاکی از آن است که کاربرد کودهای بیولوژیک به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر، در بهبود عملکرد و خصوصیات کمّی گیاه دارویی سیاهدانه تأثیر مثبتی داشته‌است.



شکل ۵- اثر کودهای بیولوژیک بر شاخص برداشت سیاهدانه

جدول ٤- نتایج همبستگی عملکرد و اجزای عملکرد سیاهدانه در شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک

ضرایب همبستگی	تعداد شاخه جانبی	تعداد کپسول در بوته	تعداد دانه در کپسول	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
تعداد شاخه جانبی	۱	۰/۵۶۸**	۰/۶۴۱**	۰/۵۰۲**	۰/۶۹۲**
تعداد کپسول در بوته	-	۱	۰/۶۵۱**	۰/۶۱۸*	۰/۴۰۳ns
تعداد دانه در کپسول	-	-	۱	۰/۶۶۲**	۰/۷۰۴**
وزن هزار دانه	-	-	-	۱	۰/۷۱۴**
عملکرد دانه	-	-	-	-	۱

به ترتیب ns ، * و ** نشانه غیر معنی‌دار و معنی‌دار بودن ضرایب همبستگی در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

منابع

۱- خرم‌دل، س.، کوچکی، ع.، نصیری محلاتی، م.، و قربانی، ر. ۱۳۸۷. اثر کاربرد کودهای بیولوژیک نیتروژن و فسفر بر شاخص‌های رشـدی سـیاهدانه (*Nigella sativa* L.). مجله پژوهشهای زراعی ایران، ۶(۲): ۲۸۵-۲۹۴.

2- Antunes, P.M., Deaville, D., and Goss, M.J. 2005. Effect of two AMF life strategies on the tripartite symbiosis with *Bradyrhizobium japonicum* and soybean. Mycorrhiza, 16(3): 167-173.

3- Barea, J.M., Azcon-Aguilar, C., and Azcon, R. 1997. Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems. *In*: "Multitrophic interactions in terrestrial systems": The 36th symposium of the British Ecological Society. Gange, A.C., and Brown, V.K. (Eds.). Cambridge University Press. pp. 65-78.

4- Bashan, Y., and Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). Canadian Journal of Microbiology, 43: 103-121.

5- Bethlenfalvay, G.J., and Linderman, R.G. 1992. Mycorrhizae in sustainable agriculture. American Society of Agronomy, Special Publication, No. 54. Madison, Wis. 124 p.

6- Boskabady, M.H., and Shirmohammadi, B. 2002. Effect of *Nigella Sativa* on isolated guinea pig tracheal chains. Archives of Institute of Rehabilitation Medicine (IRM) *Medicine,* 5: 103-107.

7- Cacciari, I., Lippi, D., Pietrosanti, T., and Pietrosanti, W. 1989. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. *Plant and Soil,* 115: 151-153.

8- Celik, I., Ortas, I., and Kilic, S. 2004. Effects of compost, mycorrhiza, manure and fertilizer on some physical properties of a Chromoxerert soil. Soil and Tillage Research 78(1): 59-67.

9- Copetta, A., Lingua, G., and Berta, G. 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Mycorrhiza, 16: 485-494.

10- D'Antuono, L.F., Moretti, A., and Lovato, A.F. S. 2002. Seed yield component, oil content and essential oil content and composition of (*Nigella sativa* L.) and (*Nigella damascene* L.). Industrial Crops and Products, 15: 59-69.

11- Dobbelaere, S. 1999. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. Plant and Soil 212: 155-164.

12- El-Mougy, N.S., and Abdel-Kader, M. 2007. Antifungal effect of powdered spices and their extracts on growth and activity of some fungi in relation to damping-off disease control. Journal of Plant Protection Research, 47(3): 267-278.

13- Elsen, T.V. 2000. Species diversity as a task for organic agriculture in Europe. Agriculture, Ecosystems and Environment, 77: 101-109.

14- Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.L., Tian, C.Y., Tang, C., and Rengel, Z. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza, 12: 185-190.

15- Ghosheh, O.A., Abdulghani Houdi, A., and Crooks, P.A. 1999. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinines and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 19: 757-762.

16- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., and Bending, G.D. 2006. Arbuscular mycorrhiza fungi and organic farming. Agriculture, Ecosystems and Environment, 113: 17-35.

17- Griffe, P., Metha, S., and Shankar, D. 2003. Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs): Forward, Preface and Introduction, FAO.

18- Harrier, L.A., and Watson, C.A. 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. Pest Management

Science, 60(2): 149-157.
19- Ishizuka, J. 1992. Trends in biological nitrogen fixation research and application. Plant and Soil, 11: 197-209.
20- Jakobsen, I. 1987. Effects of VA mycorrhiza on yield and harvest index of field-grown pea. Plant and Soil, 98(3): 407-415.
21- Kader, M.A. 2002. Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Science, 2: 259-261.
22- Kapoor, R., Chaudhary, V., and Bhatnagar, A.K. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza, 17:581-587.
23- Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in (*Foeniculum vulgare* mill) on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology, 93: 307-311.
24- Kothamasi, D., Kuhand, R.C., and Babu, C.R. 2001. Arbuscular mycorrhizae in plant survival strategies. Tropical Ecology, 42(1): 1-13.
25- Kothari, S.K., Marschner, H., and Römheld, V. 2005. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. Plant and Soil, 131(2): 177-185.
26- Kravchenko, L.V., Leonova, E.I., and Tikhonovich, I.A. 1994. Effect of root exudates of non-legume plants on the response of auxin production by associated diazotrophs. Microbial Releases, 2: 267-271.
27- Lakshmanan, A., Govindarajan, K., and Kumar, K. 2005. Effect of seed treatment with native diazotrophs on the seedling parameters of Senna and Ashwagandha. Crop Research (Hisar), 30(1): 119-123.
28- Lambrecht, M., Okon, Y., Vande Broek, A., and Vanderleyden, J. 2000. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. Trends in Microbiology, 8(7): 298-300.
29- Manaffee, W.F., and Kloepper, J.W. 1994. Application of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. *In*: "Soil biota management in sustainable farming systems". Eds. By C.E. Paankburst, B.M. Doube, V.V.S.R. Gupta, and P.R. Grace. pp. 23-31. CSIRO, Pub. East Melbourne, Australia.
30- Migahed, H.A., Ahmed, A.E., and Abd El-Ghany, B.F. 2004. Effect of different bacterial strains as biofertilizer agents on growth, production and oil of *Apium graveolens* under calcareous soil. Arab Universities Journal of Agricultural Science, 12(2): 511-525.
31- Pinior, A., Grunewaldt-Stocker, G., Von Alten, H., and Strasser, R.J. 2005. Mycorrhizal impact on drought stress tolerance of rose plants probed by chlorophyll a fluorescence, praline content and visual scoring. Mycorrhiza, 15(8): 596-605.
32- Richter, J., Stutzer, M., and Schellenberg, I. 2005. Effects of mycorrhization on the essential oil content and composition of aroma components of marjoram (*Marjorana hortensis*), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and caraway (*Carum carvi* L.). 36th International Symposium on Essential Oils, 4-7 September, Budapes, Hungary.
33- Salem, M.L., and Hossain, M.S. 2000. Protective effect of black seed oil from (*Nigella sativa)* against murine cytomegalovirus infection. International Journal of Immunopharmacology, 22: 729-740.
34- Shaalan, M.N. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. Egyptian Journal of Agricultural Research, 83: 811-828.
35- Subramanian, K.S., and Charest, C. 1997. Nutritional, growth and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasseling. Mycorrhiza, 7(1): 25-32.
36- Tehlan, S.K., Thakral, K.K., and Nandal, J.K. 2004. Effect of *Azotobacter* on plant growth and seed yield of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Haryana Journal of Horticultural Science, 33(3/4): 287-288.
37- Vande Broek, A. 1999. Auxins upregulate expression of the indole-3-pyruvate de-carboxylase gene in Azospirillum brasilense. Journal of Bacteriology, 181: 1338-1342.
38- Wu, Q.S., and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under-well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology, 163: 417-425.