https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en

Journal of Plant Biological Sciences
E-ISSN: 3041-9603
Vol. 18, Issue 2, No. 68, 2026, pp. 85- 114
Received: 07/05/2026 Accepted: 21/09/2026
(Research Paper)

The effect of integrated management of chemical and biofertilizers under different irrigation treatments on photosynthetic pigments and the activity of some antioxidant enzymes of three ecotypes of (*Nigella sativa* L.)

Maryam Zeinali Borujeni[1], Mohammad Rafieiolhossaini [2*], Mahmoud Reza Tadayon[2], Mojtaba Karimi [2]

[1] Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

[2] Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Abstract

To evaluate the effects of chemical fertilizers and biofertilizers on photosynthetic pigments, total antioxidant capacity, and the activities of selected antioxidant enzymes in black cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation regimes, an experiment was conducted as a split-factorial scheme in a randomized complete block design at two locations in May 2025. The main plots included three irrigation regimes (100%, 75%, and 50% of the crop water requirement) and the subplots included the factorial of seven fertilizer treatments, including: control, basal chemical fertilizer (based on soil analysis), brown seaweeds (*Ascophyllum nodosum*) + basal fertilizer, brown seaweeds (*Sargassum glaucescens*) + basal fertilizer, red seaweed (*Gracilaria corticata*) + basal fertilizer, soil application of mycorrhiza + basal fertilizer, and seed inoculation with Biofarm (including *Pseudomons*, *Azospirillum* and *Azotobacter* bacteria) + basal fertilizer, along with three black cumin ecotypes (Golestan, Semirom, and Lordegan). The results showed that the mycorrhiza + basal fertilizer treatment under full irrigation produced the highest content of chlorophyll *a*, *b*, and total chlorophyll (0.68, 0.27, and 0.95 mg/g fresh weight, respectively), and under 50% stress, the highest content of carotenoids (0.17 mg/g fresh weight), total antioxidants (88%), and catalase, ascorbate peroxidase, and guaiacol peroxidase activities (1.35, 2.5, and 0.6 Unit/mg protein, respectively). Semirom ecotype showed the highest enzyme activity at 50% stress. With reduced irrigation, the chlorophyll a/b ratio, carotenoid content, antioxidant capacity, and the activity of the studied enzymes increased, while the content of other pigments decreased. Overall, the Semirom ecotype and the mycorrhizal treatment combined with basal fertilizer showed more favorable responses in the measured physiological and antioxidant traits under water-limited conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, Black cumin, Drought stress, Mycorrhiza, and Seaweed.

*Corresponding Author: rafiei@sku.ac.ir

3041-9603 © University of Isfahan
This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).
doi: 10.22108/ijpb.2026.148829.1446

Introduction

Black cumin is an annual medicinal and oilseed crop in the family Ranunculaceae. Its seeds contain valuable compounds, including oil, protein, and fatty acids. Water limitation is one of the most important factors affecting its growth and physiological functions. Reduced water availability can disrupt plant metabolism by limiting water and nutrient uptake and altering photosynthetic pigment contents. In addition, drought stress can increase the production of reactive oxygen species, leading to oxidative stress and damage to cell membranes and the photosynthetic apparatus. To cope with these conditions, plants rely on enzymatic and non-enzymatic defense mechanisms. Increased activities of catalase, ascorbate peroxidase, and guaiacol peroxidase are among their responses to oxidative stress.

In recent years, the use of biological inputs in combination with chemical fertilizers has received increasing attention as an approach to sustainable nutrient management. Seaweed-derived products contain nutrients and bioactive compounds that may support plant physiological processes and antioxidant defenses. Arbuscular mycorrhizal fungi can extend the soil volume explored by roots and improve plant access to water and nutrients, thereby potentially increasing tolerance to water deficit. Moreover, plant growth-promoting bacteria may improve plant responses to environmental stress by fixing nitrogen, increasing nutrient availability, and producing growth-promoting compounds.

Although these biological inputs have been studied individually, information remains limited on how their combination with chemical fertilizer affects the physiological and antioxidant responses of black cumin ecotypes under different irrigation regimes. Therefore, this study investigated the effects of fertilizer treatments and irrigation regimes on photosynthetic pigments, total antioxidant capacity, and selected antioxidant enzyme activities in three black cumin ecotypes at two locations.

Materials and Methods

The experiment was conducted in May 2025 at two locations, including the research farm of Shahrekord University and a farm in Faradonbeh, Borujen County, using a split-factorial experiment based on a randomized complete block design with three replications. The main factor consisted of three irrigation regimes supplying 100, 75, and 50% of the crop water requirement, while the sub-factor comprised the factorial combination of seven fertilizer treatments and three black cumin ecotypes (Golestan, Semirom, and Lordegan). The fertilizer treatments included: control, basal chemical fertilizer (based on soil analysis), three types of seaweed (*Ascophyllum nodosum*, *Sargassum glaucescens*, and *Gracilaria corticata*), arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*), and Biofarm biofertilizer containing *Pseudomonas*, *Azospirillum*, and *Azotobacter* bacteria. Except for the control, all fertilizer treatments were applied in combination with the basal chemical fertilizer. Chlorophyll a, chlorophyll b, the chlorophyll

a/b ratio, total chlorophyll, carotenoid content, total antioxidant capacity, and the activities of catalase, ascorbate peroxidase, and guaiacol peroxidase enzymes were measured. Statistical analysis of the data was performed using SAS software, and means were compared using the LSD test at the 5% probability level.

Results and Discussion

Reduced irrigation altered the photosynthetic pigment profile and antioxidant defense responses of black cumin. Under full irrigation, mycorrhiza + basal fertilizer produced the highest chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll contents, with values of 0.68, 0.27, and 0.95 mg g^{-1} FW, respectively. Reducing irrigation to 50% of crop water requirement increased carotenoid content, total antioxidant capacity, and antioxidant enzyme activities. Under this condition, the highest carotenoid content, total antioxidant capacity, and activities of catalase, ascorbate peroxidase, and guaiacol peroxidase were recorded with mycorrhiza + basal fertilizer, reaching0.17 mg g^{-1} FW, 88%, and 1.35, 2.5, and 0.6 Unit mg^{-1} protein, respectively. The Semirom ecotype exhibited higher activities of the evaluated enzymes under 50% irrigation, potentially indicating greater antioxidant defense capacity and physiological adaptation to water limitation. Overall, reduced irrigation increased the chlorophyll a/b ratio, carotenoid content, total antioxidant capacity, and antioxidant enzyme activities, while decreasing the contents of the other photosynthetic pigments.

Conclusion

The results showed that the responses of black cumin to water limitation were influenced by both ecotype and fertilizer treatment. Water deficit altered photosynthetic pigment contents and antioxidant enzyme activities, while the mycorrhizal treatment combined with basal fertilizer was associated with more favorable responses in the measured traits. The Semirom ecotype exhibited higher activities of the evaluated antioxidant enzymes under water-limited conditions, suggesting variation among ecotypes in their antioxidant responses. These findings suggest that combining appropriate fertilizer management with ecotype selection may improve the physiological response of black cumin to water deficit.

علوم زیستی گیاهی، سال هجدهم، شمارهٔ پیاپی شصت و هشتم، ۱۴۰۵، صفحهٔ ۱۱۴- ۸۵
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۵/۰۲/۱۷
تاریخ بررسی مجدد: ۱۴۰۵/۰۶/۲۹
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۵/۰۶/۳۰
مقاله پژوهشی

تأثیر مدیریت تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی تحت تیمارهای مختلف آبیاری بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سه اکوتیپ سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)

مریم زینلی بروجنی[۱]، محمد رفیعی‌الحسینی[۲*]، محمودرضا تدین[۲]، مجتبی کریمی[۲]

[۱] دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد
[۲] گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

چکیده

جهت بررسی اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر روی رنگدانه‌های فتوسنتزی، ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری، آزمایشی به‌صورت اسپلیت‌فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو منطقه، در اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۴ انجام شد. کرت‌های اصلی شامل سه رژیم آبیاری (تأمین ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) و کرت‌های فرعی شامل فاکتوریل سطوح کودی در هفت سطح شاهد (بدون کود)، کود شیمیایی پایه، جلبک‌دریایی قهوه‌ای (*Ascophyllum nodosum*) + کود پایه، جلبک‌دریایی قهوه‌ای (*Sargassum glaucescens*) + کود پایه، جلبک‌دریایی قرمز (*Gracilaria corticata*) + کود پایه، کود مایکوریزا آرباسکولار (*Glomus mosseae*) + کود پایه و کود بیوفارم (حاوی باکتری‌های *Pseudomonas*، *Azospirillum* و *Azotobacter*) + کود پایه و سه اکوتیپ سیاهدانه (گلستان، سمیرم و لردگان) بودند. نتایج نشان داد تیمار مایکوریزا + کود پایه تحت آبیاری کامل، بیشترین محتوای کلروفیل a، b و کل (به‌ترتیب ۰/۶۸، ۰/۲۷ و ۰/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و تحت تنش ۵۰ درصد، بیشترین محتوای کاروتنوئیدها (۰/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، آنتی‌اکسیدان کل (۸۸ درصد) و فعالیت کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیدار و گایاکول‌پراکسیداز (به‌ترتیب ۱/۳۵، ۲/۵ و ۰/۶ Unit/mg protein) را ایجاد کرد. همچنین اکوتیپ سمیرم در تنش ۵۰ درصد، بالاترین فعالیت آنزیمی را نشان داد. از سوی دیگر، با کاهش میزان آبیاری، نسبت کلروفیل a/b، محتوای کاروتنوئیدها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی افزایش و محتوای سایر رنگدانه‌ها کاهش یافت. در مجموع، اکوتیپ سمیرم و مایکوریزا همراه با کود پایه، در صفات مورد بررسی، پاسخ فیزیولوژیک و دفاع آنتی‌اکسیدانی مطلوب‌تری نشان دادند و در شرایط محدودیت آب، سازگاری بیشتری به تنش خشکی داشتند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش خشکی، جلبک دریایی، سیاهدانه و مایکوریزا.

*Corresponding Author: rafiei@sku.ac.ir

3041-9603 © University of Isfahan
This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).
doi: 10.22108/ijpb.2026.148829.1446

مقدمه

سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی یک‌ساله و دولپه، متعلق به خانواده Ranunculaceae، سازگار با نواحی خشک و بومی غرب آسیا است. این گیاه به دو صورت خودرو و نیز به‌صورت زراعی کشت می‌شود (Khorramdel, 2016). بذر سیاهدانه غالباً حاوی پروتئین (۲۱/۰۷ درصد)، روغن (۳۹/۰۲ درصد) و سایر ترکیبات است (Albakry et al., 2022). همچنین روغن سیاهدانه غنی از اسیدهای چرب لینولئیک، اولئیک و پالمتیک است (Atta, 2003). تنش خشکی یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی مدرن است که آثار منفی فراوانی بر روی رشد، عملکرد و تولید گیاهان زراعی دارد. خشکی زمانی ایجاد می‌شود که میزان آب موجود در خاک برای تأمین نیاز آبی گیاهان، کافی نباشد که این پدیده می‌تواند منجر به کاهش ظرفیت جذب آب توسط ریشه‌ها و در نهایت به افت قابل توجهی در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه شود. تنش خشکی به‌طور مستقیم بر سیستم ریشه‌ای گیاهان تأثیر می‌گذارد و توانایی آن‌ها در جذب آب و مواد مغذی را کاهش می‌دهد. همچنین این تنش می‌تواند موجب افزایش سطح تولید رادیکال‌های آزاد در گیاهان شود که این خود، موجب آسیب به غشاهای سلولی و کاهش کارایی سیستم‌های دفاعی گیاهان خواهد شد (Chaves et al., 2003). در پاسخ به این مشکل، استفاده از کودهایی با منشاء زیستی، از قبیل جلبک‌های دریایی، مایکوریزاها و باکتری‌های محرک رشد گیاهان، می‌تواند به‌عنوان روشی کارآمد و پایدار برای بهبود مقاومت گیاهان به تنش خشکی مطرح شود. این مواد با تحریک رشد و تقویت سیستم‌های دفاعی گیاهان، می‌توانند از آسیب‌های ناشی از خشکی جلوگیری کرده و به بهبود عملکرد گیاهان تحت تنش‌های محیطی کمک کنند. مهمترین علت استفاده از جلبک‌های‌دریایی به‌عنوان کود، به‌علّت ماهیت آب‌دوست و توانایی تشکیل ساختارهای ژل‌مانند است که قادر به جذب و نگهداری آب هستند؛ همچنین، استفاده از هیدروژل‌های حاصل از این پلی‌ساکاریدها می‌تواند در نگهداری و آزادسازی تدریجی کودها و کاهش آبشویی عناصر غذایی مؤثر باشد (Kumar et al., 2024). جلبک‌های دریایی، به‌ویژه جلبک‌های قهوه‌ای مانند *Ascophyllum nodosum* دارای مواد مغذی ماکرو و میکرو، ویتامین‌ها، اسیدهای‌آمینه، اکسین، سیتوکنین و اسید آبسیزیک هستند و به‌واسطه وجود این مواد، سبب تحریک رشد گیاه، افزایش جذب مواد مغذی از خاک، افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های محیطی می‌شوند (Erulan et al., 2009). طی پژوهش‌های صورت‌گرفته، تیمار تحت عصاره جلبک‌دریایی قرمز *Gracilaria* در گیاهانی از قبیل بادمجان، فلفل و گوجه‌فرنگی سبب افزایش رشد و عملکرد آنها شدند (Narasimha & Chatterjee, 2014).

علاوه بر جلبک‌های دریایی، مایکوریزا نیز به‌عنوان قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان شناخته شده‌اند که در بهبود رشد گیاهان در شرایط خشکی، نقش مهمی دارند. این قارچ‌ها با تشکیل شبکه‌ای از میسیلیوم‌ها در خاک و ایجاد سطح تماس بیشتر ریشه با خاک، موجب بهبود جذب آب و مواد مغذی در گیاهان می‌شوند. پژوهش‌ها نشان دادند مایکوریزاها می‌توانند در شرایط تنش خشکی، توانایی گیاهان در جذب آب را افزایش داده و به‌طور مؤثر رشد گیاه را تقویت کنند (Smith & Read, 2008). علاوه بر آن، مایکوریزاها با تولید هورمون‌های رشد گیاهی و بهبود سیستم دفاعی گیاهان،

موجب افزایش مقاومت گیاهان به خشکی می‌شوند و عملکرد گیاه را در شرایط سخت، بهبود می‌بخشند (Dal Cortivo et al., 2018).

باکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPRs) با تولید هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین و سیتوکنین، تثبیت نیتروژن و بهبود دسترسی به مواد غذایی، قادر به افزایش رشد گیاهان در شرایط خشکی هستند (Turan et al., 2006). بعضی از باکتری‌ها مانند *Azospirillum* و *Azotobacter* می‌توانند نیتروژن جو را تثبیت کنند و آن‌را به‌صورت قابل جذب برای گیاه درآورند، که این پدیده در خاک‌های فقیر از نیتروژن، بسیار مفید است. همچنین، این باکتری‌ها می‌توانند با تولید آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضد استرس، مقاومت گیاهان به خشکی را افزایش دهند و از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند (Maria et al., 2023). کود زیستی بیوفارم شامل چندین گونه از باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه شامل *Azospirillum* spp.، *Azotobacter* spp. و *Pseudomonas* spp. است. از سوی دیگر، در پژوهشی مشخص شد که استفاده از کود زیستی حاوی *Azospirillum* spp.، *Azotobacter* spp.، *Phosphobacter* spp. و *Rhizobacter* spp. با افزایش میزان نیتروژن در دسترس، سبب افزایش عملکرد آفتابگردان می‌شود (Dhanasekar & Dhandapani, 2012). گونه‌های باکتری از جنس *Pseudomonas*، *Rhizobium*، *Bacillus* و *Pantoea* نیز از قوی‌ترین حل‌کنندگان فسفات محسوب می‌شوند. تولید اسیدهای آلی، سازوکار اصلی آنها برای انحلال فسفات معدنی است و اسید فسفاتازها در انحلال اشکال فسفر آلی نقش اصلی را در خاک ایفا می‌کنند (Malboobi et al., 2014; Sarikhani et al., 2019). به‌عبارت دیگر، استفاده از جلبک‌های دریایی، مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد گیاهان، به‌عنوان یک استراتژی در کشاورزی پایدار، می‌تواند به‌عنوان راه‌حلی مؤثر برای مقابله با تنش‌های محیطی و افزایش بهره‌وری گیاهان زراعی و کاهش مصرف کودهای شیمیایی و حرکت به سمت کشاورزی ارگانیک باشد. با وجود پژوهش‌های متعدد در زمینه‌ی اثرات تنش خشکی و کاربرد جداگانه‌ی کودهای زیستی، تاکنون پژوهشی جامع، درباره بررسی همزمان و تلفیقی اثر کودهای شیمیایی و جلبک‌های دریایی قهوه‌ای و قرمز، قارچ‌های مایکوریزا و کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن و حل‌کننده‌ی فسفات بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سیاهدانه تحت رژیم‌های مختلف آبیاری، گزارش نشده است. با توجه به شرایط خشک و نیمه‌خشک کشور و محدودیت منابع آبی، تدوین راهبردهای تغذیه‌ای مبتنی بر کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی در کنار تعیین رژیم آبیاری بهینه، ضرورتی اجتناب‌ناپذیر در تغییر الگوی کشت به سمت گیاهانی با تحمل بیشتر به کم‌آبی است. همچنین بهره‌گیری از اکوتیپ‌های بومی پرپتانسیل می‌تواند کارایی این راهبردها را افزایش دهد. ازاین‌رو، هدف از این پژوهش، بررسی یکپارچه مدیریت آب و تغذیه با تأکید بر کاربرد تلفیقی نهاده‌های زیستی و شیمیایی و ارزیابی پاسخ فیزیولوژیک و دفاع آنتی‌اکسیدانی سه اکوتیپ سیاهدانه تحت رژیم‌های مختلف آبیاری است. در این راستا، تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو منطقه با شرایط اقلیمی متفاوت بررسی شد تا نقش مدیریت تلفیقی تغذیه در تعدیل اثرات محدودیت آب و شناسایی الگوی پاسخ اکوتیپ‌های سیاهدانه به تنش خشکی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثر تیمارهای مختلف کودهای زیستی و شیمیایی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت ویژه برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سه اکوتیپ سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت سطوح مختلف آبیاری، آزمایشی در اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۴ در دو منطقه شامل مزرعه پژوهشی دانشگاه شهرکرد (با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۴۹ دقیقه شرقی، عرض ۳۲ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی و ارتفاع ۲۰۹۱ متر از سطح دریا) و مزرعه‌ای در فرادنبه واقع در شهرستان بروجن (با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی، عرض ۳۲ درجه و ۲ دقیقه شمالی و ارتفاع ۲۱۸۷ متر از سطح دریا) انجام شد. همچنین آزمایش به‌صورت اسپلیت‌فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. کرت‌های اصلی شامل سه رژیم آبیاری (تأمین ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) و کرت‌های فرعی شامل فاکتوریل سطوح کودی در هفت سطح شاهد (بدون کود)، کود شیمیایی پایه (بر اساس آزمون خاک)، جلبک‌دریایی قهوه‌ای (*Ascophyllum nodosum*) + کود شیمیایی پایه، جلبک‌دریایی قهوه‌ای (*Sargassum glaucescens*) + کود شیمیایی پایه، جلبک‌دریایی قرمز (*Gracilaria corticata*) + کود شیمیایی پایه، کود مایکوریزا آرباسکولار (*Glomus mosseae*) + کود شیمیایی پایه و کود مایع بیوفارم (حاوی باکتری‌های *Pseudomonas*، *Azospirillum* و *Azotobacter*) + کود شیمیایی پایه) و سه اکوتیپ سیاهدانه (سمیرم، لردگان و گلستان) بود که از بانک بذر موسسه نهال و بذر کرج تأمین شدند. کود مایع بیوفارم از شرکت فناوری زیستی طبیعت‌گرا (بایوران)، کود مایکوریزا از شرکت زراعی ارگانیک اسدآباد همدان و کودهای جلبک‌های قهوه‌ای *Ascophllum nodosum* (Acadian)، *Sargassum glaucescens* (Alga600) و جلبک قرمز *Gracilaria corticata* به‌ترتیب از نمایندگی‌های شرکت آرمان سبز آدینه، شرکت دلتاپارس نهاده و بانک جلبک ایران (شرکت توسعه ذخایر زیستی جلبک‌های فارس) تهیه شدند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک دو منطقه‌ی مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک دو منطقه‌ی مورد آزمایش

Table ۱- Physical and chemical properties of the soil of the two tested areas

Farm	Depth (cm)	EC ($dS.m^{-1}$)	pH	OC (%)	N (%)	P ($mg.kg^{-1}$)	K ($mg.kg^{-1}$)	P.W.P (%)	F.C (%)	Texture
Shahrekord	0-30	0.561	7.67	0.827	0.11	16.35	257.5	11.68	23.54	Loamy- clay
Faradonbeh	0-30	0.361	7.75	0.527	0.09	13.1	308	14.1	25.74	Clay

آماده‌سازی زمین شامل شخم عمیق، عملیات خاک‌ورزی ثانویه، تسطیح زمین و ایجاد جوی و پشته بود. هر کرت فرعی به ابعاد چهار در دو متر، شامل چهار پشته با فاصله ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کاشت بذر در دو ردیف روی هر پشته با فاصله ردیف‌ها ۲۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها چهار سانتی‌متر (معادل تراکم ۱۰۰ بوته در متر مربع) و در عمق تقریبی یک سانتی‌متر انجام شد. کود شیمیایی پایه بر اساس نتایج آزمون خاک و نیاز غذایی سیاهدانه

(۶۰ کیلوگرم نیتروژن، ۶۰ کیلوگرم اکسید فسفر و ۲۰ کیلوگرم اکسید پتاسیم در هکتار) استفاده شد (Malhotra, 2004). بر این اساس، مقادیر کودهای شیمیایی مصرفی در مزرعه شهرکرد و فرادنبه به‌ترتیب ۵۰ و ۷۰ کیلوگرم سوپرفسفات‌تریپل (قبل از کاشت) و ۹۰ و ۱۱۰ کیلوگرم اوره در هکتار به‌صورت تقسیطی در دو مرحله (زمان کاشت و پس از تنک‌کردن به‌نسبت مساوی) بود.کود مایع بیوفارم (با جمعیت باکتریایی حداقل ۲×۱۰^{۷} CFU/ml) به‌صورت تلقیح با بذر بر اساس توصیه مصرف به‌میزان چهار لیتر در ۱۰۰ کیلوگرم بذر و کودهای جلبک‌های قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* بر اساس کاتالوگ با میزان مصرف ۱/۵ کیلوگرم در هکتار، *Sargassum glaucescens* با غلظت ۰/۵ کیلوگرم در هزار لیتر آب و جلبک قرمز *Gracilaria corticata* با میزان مصرف دو لیتر در هکتار نیز، مطابق دستورالعمل‌های شرکت تولید کننده به‌صورت محلول‌پاشی در دو مرحله، شامل پس از تنک‌کردن و در آغاز گل‌دهی، توسط سم‌پاش دستی بر روی اندام هوایی گیاه استفاده شدند. آبیاری به‌صورت قطره‌ای (تیپ) صورت گرفت. نخستین آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام شد و تا مرحله چهار تا شش‌برگی، تمامی کرت‌ها به‌طور یکنواخت آبیاری شدند. پس از آن، تیمارهای آبیاری براساس درصد تأمین نیاز آبی و با درنظر گرفتن تخلیه آب مناسب خاک اعمال شدند. عملیات تنک‌کردن و کنترل علف‌های هرز به‌صورت دستی و در زمان مناسب انجام شد. داده‌های هواشناسی شامل متوسط دما و تبخیر ماهانه از ایستگاه‌های سینوپتیک شهرکرد و بروجن دریافت و برای تحلیل شرایط محیطی دوره رشد، مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲- داده‌های هواشناسی مربوط به متوسط دما و متوسط تبخیر ماهانه، از اردیبهشت تا شهریورماه ۱۴۰۴ (دوره رشدی سیاهدانه) در دو مکان مورد بررسی (سازمان هواشناسی استان چهارمحال و بختیاری)

Table 2- Meteorological data related to average temperature and average monthly evaporation, from May to September 2025 (black cumin growing period) in the two study locations (Chaharmahal and Bakhtiari Province Meteorological Organization)

Title	Location	May	June	July	August	September
Average monthly temperature (°C)	Shahrekord	16.5	19.8	24.8	23.6	20.1
	Faradonbeh	17.5	20.1	25.2	23.2	20.6
Average monthly evaporation (mm)	Shahrekord	9	11.6	12.3	10.9	9.5
	Faradonbeh	8.7	11.1	12.3	12.1	10.3

اعمال تیمار آبیاری

جهت تعیین زمان آبیاری و میزان مجاز تخلیه‌ی آب خاک، رطوبت حجمی خاک به‌صورت روزانه تا عمق ۳۰ سانتی‌متری با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج مدل SM150T (ساخت شرکت Delta-T انگلستان) اندازه‌گیری شد. سپس با در نظر گرفتن ضریب تخلیه مجاز ۵۰ درصد (Ghamarnia et al., 2010)، حد پائین رطوبت مناسب خاک (Θ_{MAD}) تعیین و با رسیدن رطوبت خاک به حد پائینی رطوبت مناسب، آبیاری انجام شد (رابطه ۱) (Farshi et al., 2003).

رابطه ۱: $\theta_{MAD} = \theta_{FC} - (\theta_{FC} - \theta_{PWP}) \times MAD$

در این معادله، Θ_{FC}: بیانگر درصد رطوبت حجمی در ظرفیت زراعی، Θ_{PWP}: نشان‌دهنده درصد رطوبت حجمی در نقطه پژمردگی دائم و MAD، ضریب تخلیه مجاز رطوبتی است. مقادیر Θ_{FC} و Θ_{PWP}، برای اعماق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری توسط دستگاه صفحات فشاری تعیین شدند (Alizadeh., 2005). جهت محاسبه حجم آب مصرفی در هر نوبت آبیاری از رابطه‌ی (۲) استفاده شد و حجم به‌دست آمده به‌کمک کنتور حجمی، بین تیمارها توزیع شد (Abbasi et al., 2014).

رابطه ۲: $V = (\theta_{FC} - \theta_{Soil}). A.d$

که در آن V: بیانگر حجم آب آبیاری (بر حسب مترمکعب)، Θ_{Soil}: درصد رطوبت حجمی خاک پیش از آبیاری (در محدوده نزدیک به θ_{MAD})، A: مساحت کرت (بر حسب مترمربع)، و d: عمق مؤثر توسعه ریشه (بر حسب متر) است. حجم آب محاسبه شده مربوط به تیمار آبیاری کامل (۱۰۰ درصد نیاز آبی) بوده و مقادیر آب در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی، به‌ترتیب با اعمال ضرایب کاهشی نسبت به آبیاری کامل، تنظیم شد.

صفات مورد اندازه‌گیری در پژوهش

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل:

محتوای کلروفیل توسط روش Lichtenthaler & Wellburn (1983)، انجام شد. بدین منظور، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ توسط استون ۸۰ درصد در هاون چینی سائیده شد، سپس حجم عصاره را با افزودن استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و به لوله فالکون منتقل شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، تا استخراج کامل رنگدانه‌ها انجام شود. پس از آن جذب محلول رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل T80 ساخت کشور انگلستان) در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر خوانده و غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی توسط روابط محاسباتی مربوطه تعیین شد.

رابطه ۳: $(\mu g/ml) = 12.21\ A_{663} - 2.81\ A_{646}\ C_a$

رابطه ۴: $(\mu g/ml) = 20.13\ A_{646} - 5.03\ A_{663}\ C_b$

رابطه ۵:

$C_{(x+c)}\ (\mu g/ml) = (1000\ A_{470} - 3.27\ C_a - 104\ C_b)/229$

A_{663}، A_{646} و A_{470} به‌ترتیب بیانگر جذب نور در طول موج ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر.

C_a: کلروفیل a، C_b: کلروفیل b و $C_{(x+c)}$: کاروتنوئیدها

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل:

به‌منظور تعیین ظرفیت مهار رادیکال آزاد (DPPH)، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه گیاهی تازه در حضور نیتروژن مایع کاملاً پودر شد و سپس با ۵ میلی‌لیتر متانول خالص هموژنایز شد. سپس مخلوط حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از عصاره رویی یک میلی‌لیتر برداشته و با یک میلی‌لیتر متانول و یک میلی‌لیتر محلول DPPH با غلظت ۰/۰۰۴ درصد (وزنی/ حجمی) مخلوط و به‌خوبی ورتکس شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای یخچال نگهداری شدند و سپس جذب آنها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. همچنین

درصد مهار رادیکال DPPH بر اساس رابطه (۶) تعیین شد (Ang et al., 2015).

رابطه ۶:

$$DPPH= \text{نمونه کنترل} - \text{نمونه گیاهی} / \text{نمونه کنترل} \times 100$$

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش اصلاح شده Aebi (1983) و با پایش اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش، حاوی بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار، با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد. کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌عنوان شاخص تجزیه H_2O_2 ثبت شد. فعالیت آنزیم کاتالاز از تقسیم فعالیت حجمی کاتالاز بر مقدار پروتئین کل عصاره استخراجی، محاسبه شد.

رابطه ۷:

$$\text{فعالیت کاتالاز (Unit)} = \frac{\Delta A \times TV \times D}{\varepsilon \times EV}$$

رابطه ۸:

$$\text{فعالیت حجمی کاتالاز (Unit/ml)} = \frac{\text{فعالیت کاتالاز (U)}}{\text{واحد حجم (ml)}}$$

رابطه ۹:

$$\text{فعالیت کاتالاز (Unit/mg protein)} = \frac{\text{فعالیت حجمی کاتالاز (U/ml)}}{\text{غلظت پروتئین عصاره (mg/ml)}}$$

Unit: یک واحد از فعالیت آنزیم کاتالاز که برابر است با مقدار آنزیمی که سبب تجزیه یک میکرومول H_2O_2 و تبدیل آن به اکسیژن و آب در مدت یک دقیقه می‌شود.

ΔA: اختلاف جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه، TV: حجم کل (بافر واکنش و عصاره)، EV: حجم عصاره و ε: ضریب خاموشی آنزیم کاتالاز ($mM^{-1}cm^{-1}$ ۳۹/۴).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX):

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز بر اساس روش اصلاح‌شده‌ی Nakano & Asada (1981) و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌صورت اسپکتروفتومتری تعیین شد. ابتدا دستگاه توسط محلول بلانک کالیبره شد. محلول بلانک شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم و ۴/۵۱ پراکسید هیدروژن نیم میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۵ میلی‌مولار فاقد عصاره بود. برای آغاز واکنش آنزیمی، ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش حاوی بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، پراکسید هیدروژن نیم میلی‌مولار و آسکوربات پنج میلی‌مولار با ۵۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیم مخلوط شد. کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر ناشی از اکسیداسیون آسکوربات ثبت و فعالیت آنزیم APX بر اساس تغییرات جذب و با استفاده از روابط محاسباتی مربوطه تعیین شد.

رابطه ۱۰:

$$\text{فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز (Unit)} = \frac{\Delta A \times TV \times D}{\varepsilon \times EV}$$

رابطه ۱۱:

$$\text{فعالیت حجمی آسکوربات‌پراکسیداز (Unit/ml)} = \frac{\text{فعالیت آسکوربات (U)}}{\text{واحد حجم (ml)}}$$

رابطه ۱۲:

$$\text{فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز (Unit/mg protein)} = \frac{\text{فعالیت آسکوربات (U)}}{\text{واحد حجم (ml)}}$$

Unit: یک واحد از فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز که برابر است با مقدار آنزیمی است که برای اکسیدکردن یک میکرومول آسکوربات در یک دقیقه نیاز است.

ΔA: اختلاف جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه، TV: حجم کل (بافر واکنش و عصاره)، EV: حجم عصاره، ε: ضریب خاموشی آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (۲/۸ $mM^{-1}cm^{-1}$) و D: ضریب رقت.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (GPX):

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز، ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر تنظیم شد. سپس دستگاه توسط محلول بلانک حاوی ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم، ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول بدون عصاره آنزیمی و ۴/۵۱ میکرولیتر پراکسید هیدروژن کالیبره شد. برای سنجش فعالیت آنزیم، مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم، ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی، ۴/۵۱ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول در کووت ریخته شد. افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر ناشی از تشکیل تتراگایاکول طی مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در واحد زمان و توسط روابط زیر تعیین شد (Herzog & Fahimi, 1973).

رابطه ۱۳:

$$\text{فعالیت گایاکول‌پراکسیداز (Unit)} = \frac{\Delta A \times TV \times D}{\varepsilon \times EV}$$

رابطه ۱۴:

$$\text{فعالیت حجمی گایاکول‌پراکسیداز (Unit/ml)} = \frac{\text{فعالیت گایاکول(U)}}{\text{واحد حجم (ml)}}$$

رابطه ۱۵:

$$\text{فعالیت گایاکول‌پراکسیداز (Unit/mg protein)} = \frac{\text{فعالیت گایاکول(U)}}{\text{واحد حجم (ml)}}$$

Unit: یک واحد از فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز که برابر است با مقدار آنزیمی است که برای اکسیدکردن یک میکرومول گایاکول در یک دقیقه نیاز است.

ΔA: اختلاف جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت یک دقیقه، TV: حجم کل (بافر واکنش و عصاره)، EV: حجم عصاره، ε: ضریب خاموشی آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (۲۶/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$) و D: ضریب رقت.

تجزیه‌های آماری

تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. همچنین رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در دو منطقه نشان داد که اثر اصلی منطقه و نیز برهم‌کنش دو، سه و چهارگانه‌ی تیمارهای منطقه با آبیاری، کود و اکوتیپ بر هیچ‌یک از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود. این پدیده بیانگر پایداری نسبی پاسخ تیمارها در شرایط اقلیمی دو منطقه و امکان تعمیم نتایج پژوهش به شرایط اقلیمی مشابه است.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف آبیاری و کودهای زیستی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، آنتی‌اکسیدان کل و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سه اکوتیپ سیاهدانه در دو منطقه

Table 3- Variance analysis of the effect of different levels of irrigation and biofertilizer on photosynthetic pigments, total antioxidant content and the activity of some antioxidant enzymes in three *Nigella sativa* ecotypes at two locations

		Mean Squares								
Sources	Df	Ch- a	Ch- b	Ch- a/b	Ch- a+b	Cars`	DPPH	CAT	APX	GPX
Location (L)	1	0.002^{ns}	0.0014^{ns}	0.09^{ns}	0.0067^{ns}	0.00009^{ns}	0.004^{ns}	0.02^{ns}	0.058^{ns}	0.0038^{ns}
Error (1)	4	0.0018	0.00044	0.45	0.0012	0.00012	30.9	0.023	0.153	0.00047
Irrigation (I)	2	1.48**	0.35**	10.1**	3.27**	0.088**	42283.8**	14.12**	68.6**	4.76**
L × I	2	0.000017^{ns}	0.00001^{ns}	0.0075^{ns}	0.00004^{ns}	0.00000001^{ns}	62.۵^{ns}	0.0008^{ns}	0.0012^{ns}	0.0001^{ns}
Error (2)	8	0.00046	0.00093	0.53	0.0003	0.000083	34.43	0.018	0.031	0.0046
Fertilizer (F)	6	0.086**	0.021**	0.68*	0.19**	0.0054**	1522.9**	1.61**	6.79**	0.34**
L × F	6	0.000084^{ns}	0.000052^{ns}	0.0033^{ns}	0.00026^{ns}	0.000003^{ns}	0.51^{ns}	0.0001^{ns}	0.00064^{ns}	0.00013^{ns}
I × F	12	0.01**	0.0019**	0.06^{ns}	0.021**	0.00053*	159**	0.077**	0.55**	0.018**
L × I × F	12	0.000012^{ns}	0.000007^{ns}	0.0021^{ns}	0.00003^{ns}	0.0000013^{ns}	0.65^{ns}	0.000036^{ns}	0.00054^{ns}	0.00007^{ns}
Ecotype (E)	2	0.019**	0.0043**	0.12^{ns}	0.042**	0.0012*	301.86**	0.42**	1.28**	0.05**
L × E	2	0.0000006^{ns}	0.0000007^{ns}	0.00084^{ns}	0.00000004^{ns}	0.00000012^{ns}	0.29^{ns}	0.000067^{ns}	0.00033^{ns}	0.00004^{ns}
I × E	4	0.0025^{ns}	0.00061^{ns}	0.012^{ns}	0.006*	0.00014^{ns}	26.82^{ns}	0.04*	0.09*	0.0038*
L × I × E	4	0.000005^{ns}	0.0000054^{ns}	0.0011^{ns}	0.000007^{ns}	0.0000003^{ns}	0.23^{ns}	0.000045^{ns}	0.0002^{ns}	0.00005^{ns}
F × E	12	0.00088^{ns}	0.0002^{ns}	0.005^{ns}	0.002^{ns}	0.00004^{ns}	3.26^{ns}	0.01^{ns}	0.031^{ns}	0.0014^{ns}
L × F × E	12	0.00001^{ns}	0.000002^{ns}	0.001^{ns}	0.000013^{ns}	0.0000002^{ns}	0.25^{ns}	0.000025^{ns}	0.0001^{ns}	0.000008^{ns}
I × F × E	24	0.00083^{ns}	0.00014^{ns}	0.0015^{ns}	0.0016^{ns}	0.00005^{ns}	2.58^{ns}	0.003^{ns}	0.006^{ns}	0.0009^{ns}
L × I × F × E	24	0.000006^{ns}	0.000002^{ns}	0.0015^{ns}	0.000008^{ns}	0.00000016^{ns}	0.19^{ns}	0.00002^{ns}	0.00014^{ns}	0.000018^{ns}
Error	240	0.0016	0.00054	0.28	0.0018	0.00025	41.8	0.012	0.033	0.0015
CV (%)		8.4	13.6	18	6.42	11.34	9.42	12.75	11.73	13.27

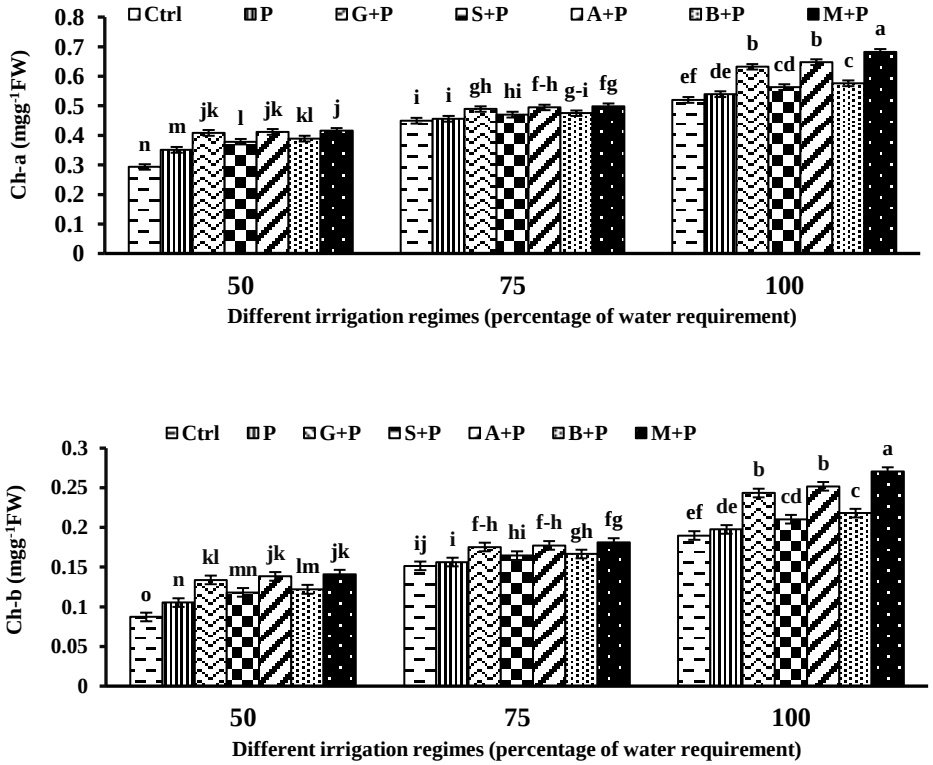
$^{n.s}$ غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪ و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪.

Not- Significannt $^{n.s}$, Significant at P ≤0.01**, Significant at P ≤0.05*

رنگدانه‌های فتوسنتزی:

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای آبیاری، کود و اکوتیپ و نیز برهم‌کنش آبیاری × کود بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، در حالی‌که اثر منطقه و سایر برهم‌کنش‌های مرتبط با آن معنی‌دار نشد (جدول ۳). این موضوع بیانگر آن است که تغییرات مشاهده‌شده در محتوای کلروفیل a و b، عمدتاً تحت تأثیر شدت تنش آبی، نوع تغذیه گیاه و تفاوت‌های ژنتیکی بوده و تفاوت‌های اقلیمی دو منطقه، اثر تعیین‌کننده‌ای بر این صفات نداشته است. همچنین معنی‌دارشدن برهم‌کنش تیمارهای آبیاری × کود نشان می‌دهد که کارایی کودها، به‌ویژه کودهای زیستی، وابسته به سطح رطوبت خاک بوده و پاسخ گیاه به تغذیه در شرایط تنش و بدون تنش، یکسان نیست. کاهش سطح آبیاری از ۱۰۰ به ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، سبب افت معنی‌دار محتوای کلروفیل a و کلروفیل b شد، که نشان‌دهنده‌ی حساسیت دستگاه فتوسنتزی به محدودیت آب است. از سوی دیگر، کاربرد کودهای زیستی همراه با کود شیمیایی پایه، در تمامی سطوح آبیاری موجب افزایش معنی‌دار این صفات نسبت به تیمار شاهد شد، به‌گونه‌ای‌که بیشترین محتوای کلروفیل a و کلروفیل b به‌ترتیب ۰/۶۸ و ۰/۲۷ میلی‌گرم بر

گرم وزن تر در شرایط آبیاری کامل و مصرف مایکوریزا + کود پایه و کمترین مقدار آنها به‌ترتیب ۰/۲۹ و ۰/۰۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در شرایط تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی و بدون مصرف کود (شاهد) مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در سیاهدانه، بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M) . ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 1- Mean Comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on chlorophyll a and chlorophyll b content in black cumin. No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M)
Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر اکوتیپ بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در سیاهدانه

Table 4- Mean comparison of the effect of ecotype on chlorophyll a, chlorophyll b content, and carotenoids (Cars) in black cumin

Ecotypes	Chl-a (mg g^{-1} FW)	Chl-b (mg g^{-1} FW)	Cars (mg g^{-1} FW)
Semirom	0.49[a]	0.18[a]	0.143[a]
Lordegan	0.48[a]	0.17[a]	0.142[a]
Golestan	0.47[b]	0.16[b]	0.137[b]

در هر ستون، میانگین‌های که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each column, the means that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

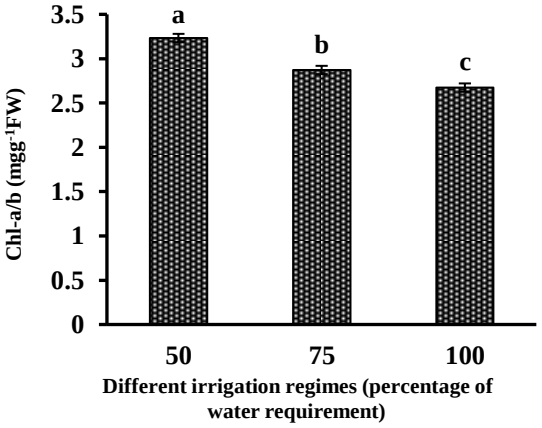
کاهش مشاهده شده در شرایط تنش در محتوای کلروفیل b را می‌توان به حساسیت بالای آن نسبت به اختلال در مسیرهای بیوسنتز و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز در شرایط تنش نسبت داد. کلروفیل b به‌عنوان رنگیزه کمکی،

نقش اساسی در گسترش طیف جذب نور و انتقال انرژی به کلروفیل a دارد؛ بنابراین کاهش آن مستقیماً ظرفیت برداشت نور و کارایی فتوسنتزی را محدود می‌کند. تنش خشکی با کاهش پتانسیل آب برگ، بسته‌شدن روزنه‌ها و محدود شدن ورود CO_2، ابتدا محدودیت در فتوسنتز گیاه ایجاد می‌کند. استمرار این شرایط با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، تخریب ساختار کلروپلاست، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تجزیه کلروفیل همراه است. از این‌رو کاهش محتوای کلروفیل به‌عنوان یکی از شاخص‌های رایج تنش اکسیداتیو در گیاهان شناخته می‌شود (Farooq et al., 2009a). همچنین، تنش خشکی با تسریع پیری برگ و کاهش سنتز پروتئین‌های کلروپلاستی، بر محتوای کلروفیل اثر منفی دارد. بنابراین افت مشاهده‌شده در این پژوهش با گزارش‌های پیشین در خصوص حساسیت رنگدانه‌های فتوسنتزی به شرایط کم‌آبی مطابقت دارد (Menconi et al., 1995). از سوی دیگر، کاربرد کودهای زیستی همراه با کود پایه شیمیایی، سبب افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در تمامی سطوح آبیاری شد و بیشترین مقدار این صفت در شرایط آبیاری کامل همراه با مایکوریزا + کود پایه به‌دست آمد. این اثر از یک‌سو ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه است؛ به‌گونه‌ای‌که قارچ‌های مایکوریزا آرباسکولار با گسترش شبکه هیفی، جذب فسفر و سایر عناصر کم‌تحرک را افزایش داده و تأمین نیتروژن و منیزیم، به‌عنوان عناصر کلیدی در ساختار مولکول کلروفیل را بهبود می‌بخشند. از سوی دیگر، همزیستی مایکوریزی با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه، شدت تنش اکسیداتیو را کاهش داده و از تخریب رنگیزه‌ها جلوگیری می‌کند. گزارش شده است که گیاهان مایکوریزه تحت تنش خشکی، محتوای کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان غیرمایکوریزه حفظ می‌کنند که این پدیده به بهبود کارایی فتوسنتزی و رشد منجر می‌شود (Smith & Read, 2008; Auge, 2001). اثر معنی‌دار اکوتیپ بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل b نشان داد که تفاوت‌های ژنتیکی میان اکوتیپ‌های مورد بررسی در حفظ رنگیزه‌ها تحت شرایط تنش، نقش تعیین‌کننده‌ای دارد. اکوتیپ سمیرم با میانگین ۰/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، بیشترین محتوای کلروفیل a و با میانگین ۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین محتوای کلروفیل b را به‌خود اختصاص داد، در حالی‌که اکوتیپ گلستان به ترتیب با میانگین ۰/۴۷ و ۰/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کمترین محتوای کلروفیل a و کلروفیل b را نشان داد (جدول ۴). برتری اکوتیپ سمیرم می‌تواند ناشی از کارایی بیشتر در جذب آب و عناصر غذایی، پایداری غشایی بالاتر و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر باشد که در نهایت سبب حفظ ساختار کلروپلاست در شرایط محدودیت آب می‌شود. این ویژگی‌ها می‌تواند آن را به گزینه‌ای مناسب برای برنامه‌های اصلاحی و کشت در مناطق مستعد خشک و نیمه خشک تبدیل کند، زیرا پایداری رنگیزه‌های فتوسنتزی طبق پژوهش‌های Blum (2011) ارتباط مستقیم با حفظ تولید ماده خشک و عملکرد نهایی گیاه دارد.

نسبت کلروفیل a/b:

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثرات اصلی آبیاری و کود به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد بر نسبت کلروفیل a/b معنی‌دار شدند (جدول ۳). این نتایج نشان دادند

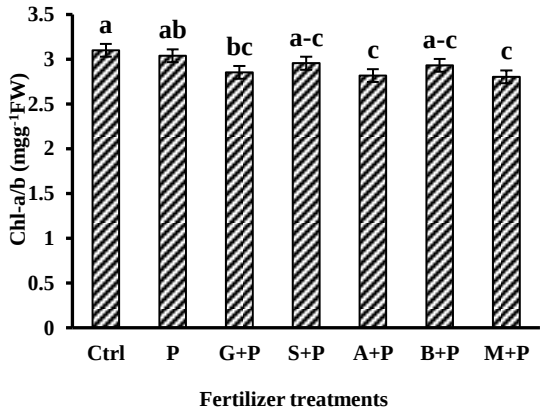
تعادل بین رنگیزه‌های اصلی و کمکی فتوسنتزی عمدتاً تحت تأثیر مدیریت منابع آبی و تغذیه‌ای قرار دارد. افزایش حجم آبیاری از ۵۰ به ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه، سبب کاهش معنی‌دار مقدار نسبت کلروفیلa/b شد و کاربرد کودهای زیستی، به‌همراه کود شیمیایی پایه در تمامی سطوح آبیاری، مقدار این نسبت را در مقایسه با شاهد کاهش داد. بیشترین مقدار این نسبت (۳/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تأمین نیاز آبی ۵۰ درصد و کمترین مقدار آن (۲/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط آبیاری کامل گیاه، مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر آبیاری بر نسبت کلروفیل a/b در سیاهدانه. ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure ۲- Mean comparison of the effect of irrigation on the chlorophyll a/b ratio in black cumin
Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

افزایش این نسبت در شرایط کم‌آبی، نشان‌دهنده‌ی کاهش نسبی محتوای کلروفیلb در مقایسه با کلروفیلa است، که می‌تواند بخشی از پاسخ سازشی گیاه برای مدیریت انرژی نوری و پیشگیری از آسیب فتواکسیداتیو باشد. کاهش نسبی کلروفیلb در این شرایط با کاهش ظرفیت انتقال انرژی از آنتن‌های نور به فتوسیستمII مرتبط است و به تنظیم نسبت انرژی ورودی به خروجی در کمپلکس‌های فتوسنتزی کمک می‌کند (Munns & Tester, 2008). کاربرد کودهای زیستی همراه با کود شیمیایی پایه در تمامی سطوح آبیاری، سبب کاهش معنی‌دار نسبت کلروفیل a/b در مقایسه با شاهد شد. بیشترین مقدار این نسبت (۳/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط بدون کاربرد کود (شاهد) و کمترین مقدار آن (۲/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط کاربرد کود مایکوریزا به همراه کود پایه مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر کود بر نسبت کلروفیل a/b در سیاهدانه. بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

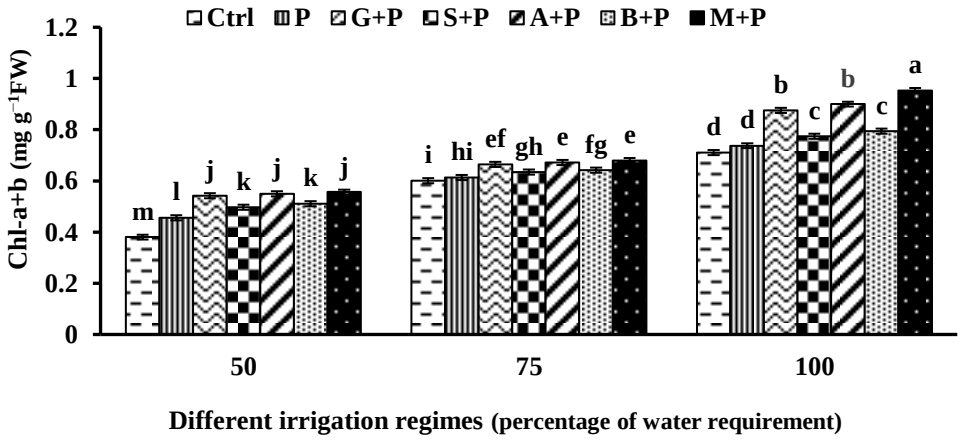
Figure 3- Mean comparison of the effect of Fertilizer on the chlorophyll a/b ratio in black cumin
No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M)
Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

تغییرات نسبت کلروفیل a/b نشان می‌دهد که گیاه با تنظیم ساختار آنتن‌های نوری و بازآرایی تعادل رنگیزه‌ها، ظرفیت فتوسنتزی خود را در پاسخ به محدودیت آب و شرایط تغذیه‌ای حفظ می‌کند. افزایش این نسبت در

شرایط کم‌آبی می‌تواند به‌عنوان یک پاسخ حفاظتی برای کاهش آسیب اکسیداتیو و جلوگیری از تجمع انرژی مازاد در فتوسیستم‌ها تعبیر شود، در حالی‌که کاهش آن در تیمارهای حاوی کود زیستی بیانگر بهبود وضعیت تغذیه‌ای، افزایش کلروفیلb و توسعه ظرفیت جذب نور است. بنابراین، مدیریت آبیاری و تغذیه می‌تواند طبق پژوهش‌های Rai et al. (2020) توسط تنظیم نسبت رنگیزه‌ها و تقویت سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی، پایداری عملکرد فتوسنتزی گیاه را در شرایط تنش، حفظ نماید.

کلروفیل کل:

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثرات اصلی تیمارهای آبیاری، کود، اکوتیپ و برهم‌کنش تیمارهای آبیاری × کود، در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین برهم‌کنش تیمارهای آبیاری × اکوتیپ بر محتوای کلروفیل کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۳). در مقایسه با تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی، آبیاری کامل سبب افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل کل شد. از سوی دیگر، کاربرد کودهای زیستی همراه با کود شیمیایی پایه در تمامی سطوح آبیاری، محتوای کلروفیل کل را نسبت به شاهد (بدون کود) افزایش داد. بیشترین محتوای کلروفیل کل (۰/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری کامل و مصرف کود مایکوریزا به‌همراه کود پایه و کمترین مقدار آن (۰/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی و بدون مصرف کود (شاهد) مشاهده شد. پس از آن، به‌ترتیب تیمارهای جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum*، جلبک قرمز *Gracilaria corticata*، بیوفارم و جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* به‌همراه کود پایه و کاربرد کود پایه به‌تنهایی، در کلیه‌ی سطوح آبیاری، در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۴). این یافته‌ها نشان می‌دهد که محتوای کلروفیل کل، تحت تأثیر هم‌زمان مدیریت منابع آب، وضعیت ژنتیکی گیاه و نوع تغذیه قرار گرفته و حساسیت سیستم فتوسنتزی به تغییرات محیطی و مدیریتی را آشکار می‌سازد.



شکل ۴- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر محتوای *کلروفیل کل* در سیاهدانه

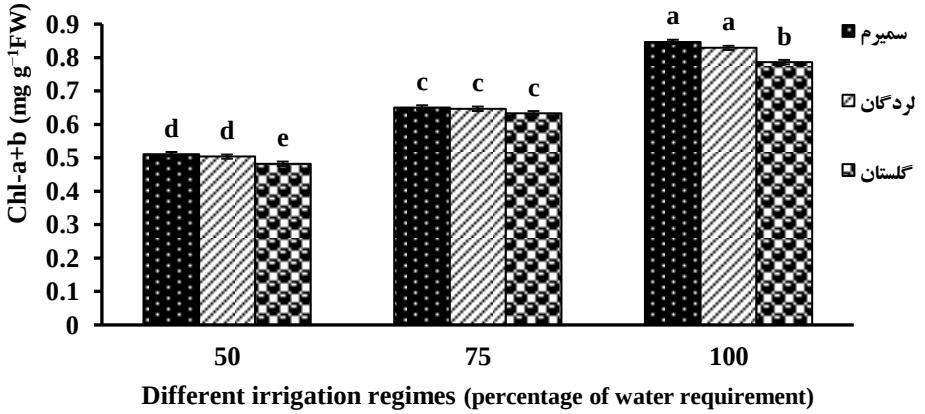
بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure ۴- Mean Comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on chlorophyll a +b content in black cumin

No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M)

Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

تنش خشکی مسیرهای متابولیکی را تحت تأثیر قرار داده، سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها) را کاهش داده یا تخریب می‌کند (Sharma et al., 2017). از سوی دیگر، برهم‌کنش اکوتیپ × آبیاری بر محتوای کلروفیل کل نشان داد که اکوتیپ‌ها تحت تأثیر وضعیت رطوبتی قرار گرفته و دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بودند (جدول ۳). اکوتیپ سمیرم تحت رژیم آبیاری کامل، بیشترین (۰/۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و اکوتیپ گلستان در تنش آبی ۵۰ درصد، کمترین (۰/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) محتوای کلروفیل کل را تولید کرد. اکوتیپ سمیرم در تمام سطوح آبیاری، محتوای کلروفیل کل بیشتری نسبت به سایر اکوتیپ‌ها تولید نمود (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین برهم‌کنش آبیاری در اکوتیپ بر محتوای کلروفیل کل در سیاهدانه. ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

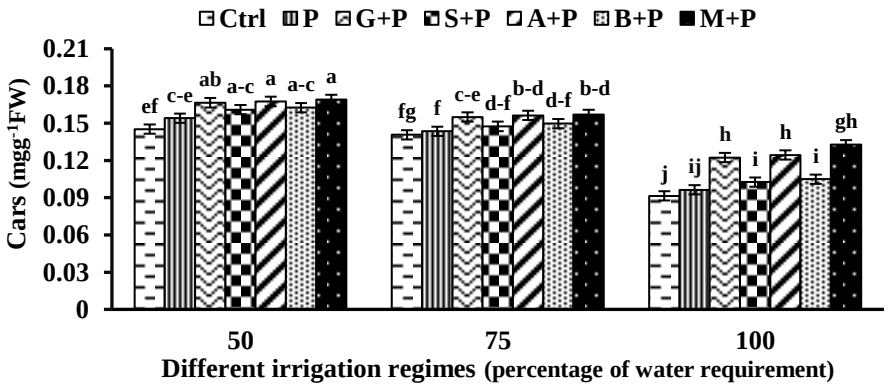
Figure ۵- Mean comparison of the effect of irrigation interaction in ecotype on chlorophyll a+b content in black cumin
Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

کاربرد کودهای زیستی به‌ویژه کود مایکوریزا همراه با کود شیمیایی پایه، اثر مثبتی بر افزایش محتوای کلروفیل کل داشت. طبق پژوهش‌های پیشین، این کودها با بهبود دسترسی گیاه به عناصر مغذی کلیدی مانند نیتروژن و منیزیم، سنتز کلروفیل را تقویت کرده و از تخریب رنگیزه‌ها جلوگیری می‌کنند. کاربرد قارچ مایکوریزا آرباسکولار، سبب افزایش ظرفیت سیستم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی سلول شده و از پراکسیداسیون لیپیدهای کلروپلاست جلوگیری می‌کند، که در نهایت حفظ کلروفیل کل و بهبود کارایی فتوسنتزی را به‌دنبال دارد؛ که بیانگر همسویی یافته‌های این پژوهش با پژوهش‌های Chandrasekaran et al. (2019) است. احتمالاً قارچ‌های مایکوریزا در طی تنش خشکی با کاهش محتوای کلروفیل، موجب کاهش تولید فرم‌های مولکولی فعال اکسیژن می‌شوند و از این روش خسارت سیستم فتوسنتزی گیاه را کاهش می‌دهند (Kranner et al., 2002).

کاروتنوئیدها:

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثرات اصلی آبیاری و کود در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین اثر اصلی اکوتیپ و برهم‌کنش آبیاری × کود در سطح احتمال ۵

درصد بر محتوای کاروتنوئیدها معنی‌دار شدند (جدول ۳). این یافته‌ها نشان می‌دهد که محتوای کاروتنوئیدها تحت تأثیر مدیریت منابع آبی، تغذیه گیاه و تفاوت‌های ژنتیکی قرار گرفته و به‌عنوان شاخصی کلیدی در پاسخ به تنش خشکی عمل می‌کند. کاهش حجم آبیاری از ۱۰۰ به ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، سبب افزایش معنی‌دار محتوای کاروتنوئیدها شد و با کودهای زیستی به‌همراه کود شیمیایی پایه در تمامی سطوح آبیاری، مقدار آن در مقایسه با شاهد (بدون کود) افزایش یافت. بیشترین محتوای کاروتنوئیدها (۰/۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تأمین نیاز آبی ۵۰ درصد و کاربرد کود مایکوریزا + کود پایه و کمترین مقدار آن (۰/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و بدون کاربرد کود مشاهده شد (شکل ۶). این افزایش می‌تواند به‌عنوان پاسخ سازشی گیاه برای مقابله با استرس اکسیداتیو تفسیر شود، زیرا کاروتنوئیدها با مشارکت در دفع انرژی اضافی نور، کاهش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کمک به حفظ یکپارچگی غشاهای کلروپلاستی، در حفاظت نوری و تنظیم وضعیت اکسایش-کاهش سلول نقش دارند. این سازوکارها می‌توانند در شرایط تنش خشکی، به کاهش آسیب اکسیداتیو و حفظ عملکرد فتوسنتزی گیاه کمک کنند (Demmig-Adams et al., 2025).



شکل ٦- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر محتوای کاروتنوئیدها در سیاهدانه

بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 6- Mean comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on carotenoids (Cars) content in black cumin

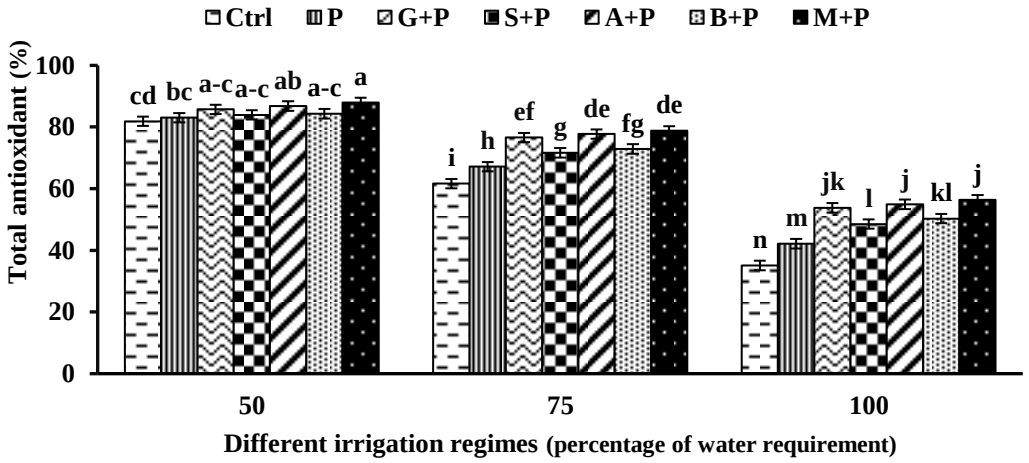
No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M) .Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر اکوتیپ بر محتوای کاروتنوئیدها نیز در سطح احتمال ۵ درصد، معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین سه اکوتیپ، نشان داد که اکوتیپ سمیرم بالاترین (۰/۱۴۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و اکوتیپ گلستان پائین‌ترین (۰/۱۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) محتوای کاروتنوئیدها را داشتند (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد

برتری اکوتیپ سمیرم در این پژوهش، نشان‌دهنده ظرفیت ژنتیکی بالاتر آن برای حفظ و سنتز رنگیزه‌های حفاظتی تحت محدودیت آب است. ویژگی‌های ژنتیکی این اکوتیپ شامل کارایی بیشتر در جذب آب و عناصر غذایی، پایداری غشایی بالاتر و توانایی بالای آنتی‌اکسیدانی سلول می‌باشد که منجر به حفظ ساختار کلروپلاست و افزایش تجمع کاروتنوئیدها حتی در شرایط تنش آبی می‌شود و نتایج این پژوهش همسو با یافته‌های Havaux (1998) است.

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل:

نتایج حاصل نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای آبیاری، کود و اکوتیپ و نیز برهم‌کنش تیمارهای آبیاری × کود بر ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افزایش شدت تنش خشکی، افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل را در پی داشت، به‌گونه‌ای‌که بیشترین مقدار (۸۸ درصد) در تیمار مایکوریزا + کود پایه تحت تنش ۵۰ درصد و کمترین مقدار (۳۵ درصد) در تیمار بدون کود و فاقد تنش، مشاهده شد و در رتبه‌های بعدی در کلیه‌ی سطوح آبیاری، به‌ترتیب تیمارهای جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum*، جلبک قرمز *Gracilaria corticata*، بیوفارم و جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* به‌همراه کود پایه و کاربرد کود پایه به‌تنهایی، قرار گرفتند (شکل ۷). این الگو بیانگر فعال‌سازی سیستم دفاع اکسیداتیو در پاسخ به اختلال تعادل ردوکس سلولی است. در شرایط کم‌آبی، محدودیت در تثبیت CO_2 موجب افزایش احیای بیش از حد زنجیره انتقال الکترون در کلروپلاست و در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود؛ این ROSها به‌عنوان مولکول‌های سیگنال‌دهنده، مسیرهای دفاعی را القا می‌کنند (Gill & Tuteja, 2010).



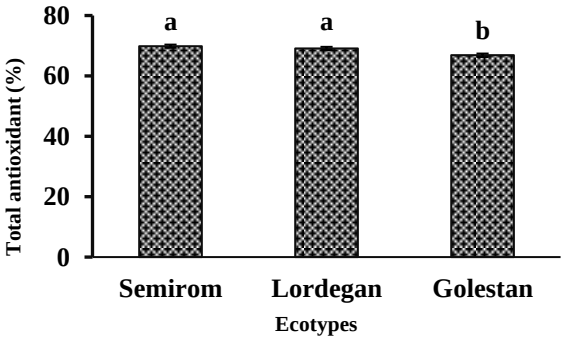
شکل ۷- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر آنتی‌اکسیدان کل در سیاهدانه

بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 7- Mean comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on total antioxidants in black cumin

No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M) .Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

در شرایط تنش‌های محیطی مانند خشکی، فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و محتوای بالای اجزای غیرآنزیمی از اهمیت زیادی برخوردار است. گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه، توسط انواع مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها و یا مولکول‌های جاروب‌کننده، حذف می‌شوند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کارآمدترین سازوکار در برابر تنش‌های اکسیداتیو هستند (Farooq et al., 2009b). کاربرد کودهای زیستی، به‌ویژه مایکوریزا همراه با کود پایه، نشان داد که همزیستی مایکوریزایی در شرایط تنش، کارایی سیستم دفاعی را تشدید می‌کند. به‌نظر می‌رسد قارچ‌های مایکوریزا آرباسکولار با افزایش سطح جذب فسفر، روی و مس، که کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند، موجب بهبود عملکرد سیستم خنثی‌سازی ROS می‌شوند. علاوه بر این، مایکوریزا از طریق بهبود وضعیت آبی گیاه و افزایش هدایت روزنه‌ای، شدت تنش اکسیداتیو را تعدیل می‌کند (Chandrasekaran et al., 2019). از سوی دیگر، نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر اکوتیپ بر مقدار آنتی‌اکسیدان کل نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اکوتیپ‌های مختلف نشان داد که اکوتیپ سمیرم بالاترین (۷۰ درصد) و اکوتیپ گلستان پائین‌ترین (۶۷ درصد) مقدار آنتی‌اکسیدان کل را به‌خود اختصاص دادند (شکل ۸).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر اکوتیپ بر آنتی‌اکسیدان کل در سیاهدانه
ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 8- Mean comparison of the effect of ecotype on total antioxidants in black cumin
Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

این اختلاف در اکوتیپ‌ها، می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی در تنظیم سیستم ردوکس و کارایی مسیر فنیل‌پروپانوئید باشد. به‌نظر می‌رسد اکوتیپ‌های متحمل‌تر معمولاً دارای ظرفیت بالاتر در تنظیم تعادل بین تولید و حذف ROS هستند و می‌توانند بدون آسیب ساختاری شدید، پاسخ دفاعی قوی‌تری ایجاد کنند که این نتایج با یافته‌های Gill & Tuteja (2010) مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب داده‌ها، نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای آبیاری، کود، اکوتیپ و برهم‌کنش تیمارهای آبیاری × کود در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین بر همکنش آبیاری × اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۵- مقایسه میانگین برهم‌کنش آبیاری در اکوتیپ بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سیاهدانه

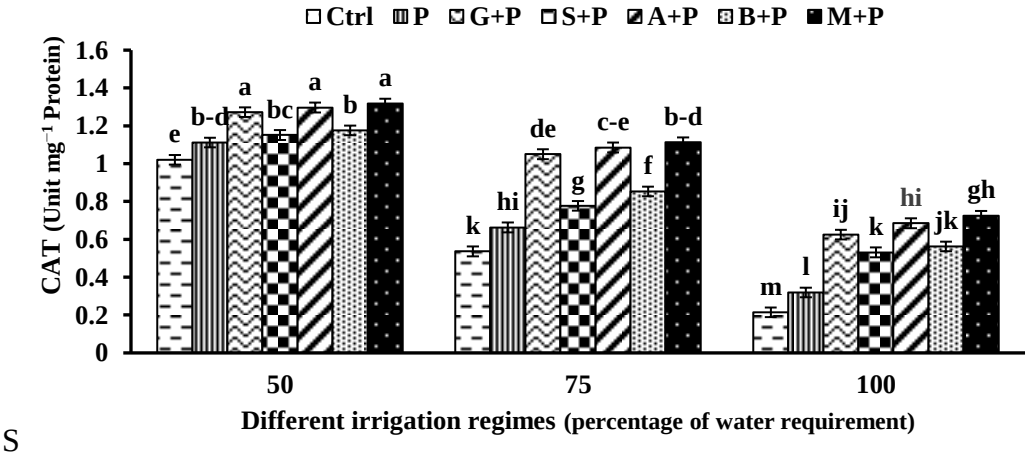
Table 5- Mean comparison of the interaction effect of different irrigation regimes and ecotype on the activity of some antioxidant enzymes in black cumin

Irrigation levels (percentage of water requirement)	Ecotype	CAT (Unit mg^{-1} Protein)	APX (Unit mg^{-1} Protein)	GPX (Unit mg^{-1} Protein)
100	Semirom	0.58^{e}	0.95^{e}	0.13^{e}
	Lordegan	0.56^{e}	0.89^{e}	0.12^{e}
	Golestan	0.42^{f}	0.7^{f}	0.087^{f}
75	Semirom	0.91^{c}	1.6^{c}	0.28^{c}
	Lordegan	0.89^{c}	1.55^{c}	0.27^{cd}
	Golestan	0.8^{d}	1.36^{d}	0.26^{d}
50	Semirom	1.21^{a}	2.36^{a}	0.52^{a}
	Lordegan	1.2^{ab}	2.34^{ab}	0.51^{a}
	Golestan	1.16^{b}	2.27^{b}	0.46^{b}

در هر ستون، میانگین‌های که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each column, the means that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز، به‌گونه معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۱/۳۱ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار مایکوریزا همراه با کود پایه در شرایط تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، مشاهده شد و کمترین آن (۰/۲۱ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار شاهد (بدون کود) در شرایط فاقد تنش بود (شکل ۹). این الگو نشان می‌دهد که کاتالاز یکی از اجزای کلیدی پاسخ دفاع اکسیداتیو در برابر محدودیت آب است و با افزایش فشار اکسیداتیو، به‌صورت القایی فعال می‌شود (Apel & Hirt, 2004).



S

شکل ۹- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سیاهدانه

بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

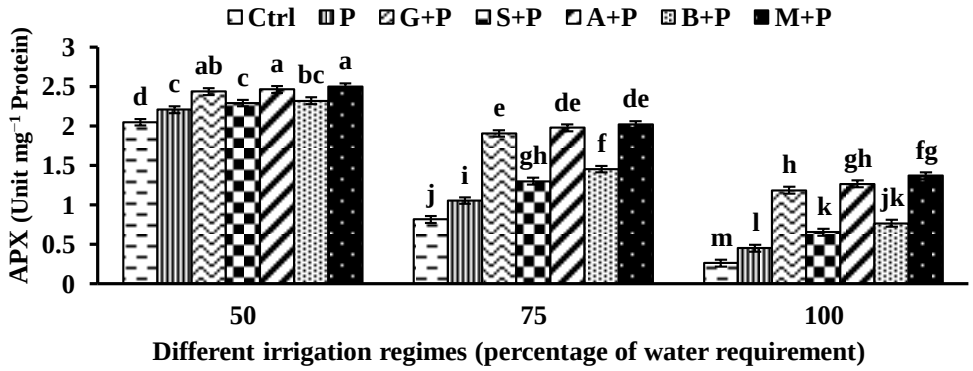
Figure 9- Mean comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on the activity of catalase (CAT) enzyme in black cumin

No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M). Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی برای از بین‌بردن اثرات زیانبار ROS تحت تنش‌های محیطی تکامل یافته‌اند. بنابراین، آنزیم‌های خاصی مانند کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در سیستم جاروب ROS فعال شده‌اند تا آسیب‌های اکسیداتیو را به حداقل برسانند. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نیز مانند کاروتنوئیدها و ترکیبات مختلف فنلی (فنل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسید آسکوربیک) نقش محافظتی در جلوگیری از تولید ROS دارند (Kong et al., 2023). افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی در گیاهانی نظیر فلفل (*Capsicum annumn* L.) (Alluqmani & Alabdallah, 2023)، اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) (Alotaibi et al., 2023) و کدو (*Cucurbita pepo* L.) (Jahed et al., 2023) نیز گزارش شده است. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، Bazi Zlan et al. (2022) در پژوهشی بر روی گل‌سازویی (*Scrophularia striata* L.) و همچنین Tohidi et al. (2026) در پژوهشی بر روی کلپوره *Teucrium polium* L. گزارش کردند که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. همچنین *برهم‌کنش* اکوتیپ × آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که اکوتیپ‌ها تحت تأثیر وضعیت رطوبتی قرار گرفته و *دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بودند. اکوتیپ سمیرم تحت تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، بیشترین* (۱/۲۱ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) *و اکوتیپ گلستان در تأمین آبیاری کامل، کمترین* (۰/۴۲ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) *میزان* فعالیت آنزیم کاتالاز *را تولید کرد* (جدول ۵). طبق یافته‌ها گزارش شده است که فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی آرابیدوپسیس، هنگام قرارگرفتن در معرض تنش آبی افزایش می‌یابد، که نشان‌دهنده این مطلب است که این پدیده، می‌تواند یک پاسخ تطبیقی به ROS باشد (Tunc-Ozdemir et al., 2009). از سوی دیگر، تنش خشکی با کاهش تثبیت CO_2 و برهم خوردن تعادل انرژی در کلروپلاست‌ها همراه است که سبب افزایش تولید H_2O_2 می‌شود. کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم تتراهم‌دار وابسته به هم (heme-containing enzyme)در پراکسی‌زوم‌ها، H_2O_2 را مستقیماً به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و از تجمع سطوح سمی آن جلوگیری می کند. افزایش فعالیت CAT بیانگر فعال‌سازی مسیرهای سم‌زدایی H_2O_2 و حفظ هموستازی ردوکس در سلول است (Gill & Tuteja, 2010). قارچ‌های مایکوریزا از طریق افزایش تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و نفوذپذیری غشاء، می‌توانند خسارت ناشی از تنش کم‌آبی را کاهش دهند (Naseem & Bano, 2014).

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX):

نتایج نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای آبیاری، کود، اکوتیپ و برهم‌کنش آبیاری × کود در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین برهمکنش آبیاری × اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد، بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم (۲/۵ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار مایکوریزا همراه با کود پایه در شرایط تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، مشاهده شد و کمترین مقدار آن (۰/۲۶ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار شاهد (بدون کود) در شرایط فاقد تنش بود. پس از آن در کلیه‌ی سطوح آبیاری، به‌ترتیب تیمارهای جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum*، جلبک قرمز *Gracilaria corticata*، بیوفارم و جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* به‌همراه کود پایه و کاربرد کود پایه به‌تنهایی، در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در سیاهدانه

بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 10- Mean comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on the activity of ascorbate peroxidase (APX) enzyme in black cumin

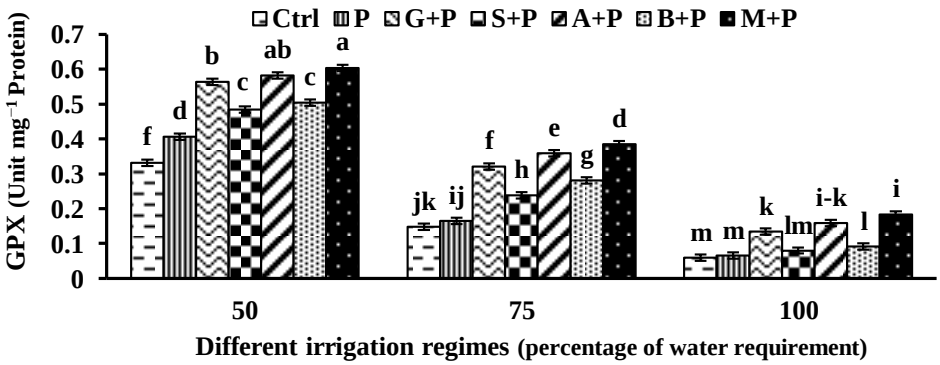
No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M). Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز و گایاکول‌پراکسیداز از H_2O_2به‌عنوان سوبسترا برای واکنش استفاده می‌کنند و افزایش تنش خشکی، سبب افزایش فعالیت این دو آنزیم می‌شود (Mittler, 2002). همچنین برهم‌کنش اکوتیپ × آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نشان داد که اکوتیپ‌ها تحت تأثیر وضعیت رطوبتی قرار گرفته و *دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بودند.* اکوتیپ سمیرم تحت تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، بیشترین (۲/۳۶ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) و اکوتیپ گلستان در تأمین آبیاری کامل، کمترین (۰/۷ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) *میزان* فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز *را نشان دادند (*جدول ۵*)*. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اکوتیپ سمیرم از ظرفیت ژنتیکی بالاتری برای فعال‌سازی مسیرهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در شرایط کم‌آبی برخوردار است. افزایش فعالیت آنزیم APXدر تیمارهای حاوی مایکوریزا همراه با کود پایه، می‌تواند ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه، به‌ویژه تأمین عناصر مغذی کلیدی مانند فسفر و منیزیم باشد، که به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ایفای نقش می‌کنند. بهبود جذب عناصر غذایی به‌وسیله مایکوریزا می‌تواند ظرفیت بیوسنتز آسکوربات و همراه با آن فعالیت آنزیم APX را افزایش دهد و شدت پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش دهد، که در نهایت به حفظ ساختار غشاءها و فتوسنتز کمک می‌کند. همچنین نتایج این پژوهش با یافته‌های Ahmed et al. (2013) که نشان دادند تحت تأثیر تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی جو، افزایش می‌یابد، مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (GPX):

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در دو منطقه مورد پژوهش نشان داد که اثرات اصلی آبیاری، کود، اکوتیپ و

برهم‌کنش آبیاری × کود در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین برهم کنش آبیاری × اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز با افزایش شدت تنش خشکی، افزایش یافت، امّا شدت این افزایش در تیمارهای دارای کود زیستی به‌همراه کود پایه در شرایط افزایش تنش خشکی، به‌گونه معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (۰/۶ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) در شرایط تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه و تیمار مایکوریزا همراه با کود پایه مشاهده شد، در حالی‌که کمترین میزان آن (۰/۰۶ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد، تحت آبیاری کامل، ثبت شد (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارهای کود و رژیم‌های مختلف آبیاری بر فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در سیاهدانه

بدون کود (Ctrl)، کود پایه (P)، جلبک قرمز *Gracilaria corticata* (G)، جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* (S)، جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* (A)، بیوفارم (B) و کود مایکوریزا آرباسکولار (M). ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 11- Mean comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and different irrigation regimes on the activity of guaiacol peroxidase (GPX) enzyme in black cumin

No fertilizer (Ctrl), basal fertilizer (P), red algae *Gracilaria corticata* (G), brown algae *Sargassum glaucescens* (S), brown algae *Ascophyllum nodosum* (A), Biofarm (B), and Arbuscular mycorrhiza fertilizer (M). Columns that have at least one letter in common are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

همزیستی قارچ‌های مایکوریزا با بهبود جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر، افزایش سطح ریشه و بهبود وضعیت آبی گیاه، سبب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود. پژوهش‌های جدید نشان داده‌اند که تلقیح مایکوریزا می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله پراکسیدازها را افزایش داده و تحمل به خشکی را بهبود بخشد (Begum et al.,2019). در بررسی برهم‌کنش آبیاری در اکوتیپ، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شد، که نشان‌دهنده‌ی تفاوت واکنش اکوتیپ‌ها به تیمارهای آبیاری است. بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز (۰/۵۲ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) در اکوتیپ سمیرم تحت تأمین ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه و کمترین میزان آن (۰/۰۸۷ واحد فعالیت آنزیم به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) در اکوتیپ گلستان و در تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه مشاهده شد (جدول ۵). در همه سطوح آبیاری، اکوتیپ سمیرم، فعالیت

آنزیم گایاکول‌پراکسیداز بیشتری نسبت به دو اکوتیپ لردگان و گلستان نشان داد. این برتری می‌تواند به تفاوت‌های ژنتیکی، سازگاری اکولوژیک و کارایی بالاتر اکوتیپ سمیرم در حفظ تعادل آبی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمدتر آن نسبت داده شود. همچنین پژوهش‌های اخیر نشان دادند ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی معمولاً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارند که این موضوع به آن‌ها کمک می‌کند تا آسیب‌های ناشی از ROS در شرایط تنش کم‌آبی را تعدیل نمایند (Kaur et al., 2021).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که پاسخ اکوتیپ‌های سیاهدانه در مواجهه با تنش خشکی، ماهیتی پیچیده و چندعاملی داشته، به‌گونه‌ای‌که این واکنش تحت تأثیر برهم‌کنش ویژگی‌های ژنتیکی اکوتیپ‌ها و نوع مدیریت تغذیه‌ای قرار گرفت. مدیریت تلفیقی تغذیه، توسط کاربرد کودهای با منشاء زیستی همراه با کود پایه، توانست کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی را تعدیل و ظرفیت فتوسنتزی گیاه را حفظ نماید. همچنین، تفاوت پاسخ سه اکوتیپ سیاهدانه به رژیم‌های مختلف آبیاری و تیمارهای تغذیه‌ای، اهمیت تنوع ژنتیکی در واکنش به محدودیت آب و ضرورت توجه به انتخاب اکوتیپ‌های دارای سازگاری فیزیولوژیک و دفاع آنتی‌اکسیدانی مطلوب در شرایط کم‌آبی را نشان داد. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی موجب القای پاسخ‌های دفاعی اکسیداتیو در گیاه شده و کاربرد مایکوریزا همراه با کود پایه، توانست با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، اثرات منفی تنش را تا حدی کاهش دهد. همچنین، برتری اکوتیپ سمیرم در شرایط محدودیت آب، می‌تواند بیانگر توانایی بیشتر این اکوتیپ در حفظ و تقویت ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش کارایی سازوکارهای خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن در پاسخ به تنش خشکی باشد. بنابراین، مدیریت تلفیقی کود زیستی و شیمیایی در کنار انتخاب اکوتیپ‌های متحمل به خشکی، می‌تواند راهکاری مؤثر برای افزایش تاب‌آوری گیاه در مناطق کم‌آب مدنظر قرار گیرد.

References

Abbasi, M., Maleki, A., Mirzaei-Heidari, M., & Rostami-Nia, M. (2014). Interaction of symbiotic mycorrhizae and foliar application of iron and zinc on some quantitative and qualitative characteristics of mung bean under different irrigation regimes. *Journal of Environmental Stresses in Agricultural Sciences*, *15*(2), 407-426. http://doi.org/10.22077/escs.2021.3757.1912 [In Persian]

Aebi, H. (1983). Catalase. In H. Bergmeyer (ed.), *Methods of enzymatic analysis 3* (pp. 273-277). Weinheim. http:/doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Ahmed, I. M., Dai, H., Zheng, W., Cao, F., Zhang, G., Sun, D., & Wu, F. (2013). Genotypic differences in physiological characteristics in tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. *Plant Physiology and Biochemistry*, 63, 49–60.

https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.11.004

Albakry, Z., Karrar, E., Ahmed, I. A. M., Oz, E., Proestos, C., El Sheikha, A. F., Oz, F., Wu, G., & Wang, X. (2022). Nutritional composition and volatile compounds of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed, fatty acid composition and tocopherols, polyphenols, and antioxidant activity of its essential oil. *Horticulturae*, 8(7), Article 575. https://doi.org/10.3390/horticulturae8070575

Alizadeh, A. (2005). *The Relationship between water, soil, and plants* (Seventh Edition). Astan Quds Razavi Publications. Mashhad. [In Persian]

Alluqmani, S. M., & Alabdallah, N. M. (2023). Exogenous application of carbon nanoparticles alleviates drought stress by regulating water status, chlorophyll fluorescence, osmoprotectants, and antioxidant enzyme activity in *Capsicum annumn* L. *Environmental Science and Pollution Research*, *30*(20), 57423-57433. http://doi.org/10.1007/s11356-023-26606-0

Alotaibi, M. O., Ikram, M., Alotaibi, N. M., Hussain, G. S., Ghoneim, A. M., Younis, U., Naz, N., & Danish, S. (2023). Examining the role of AMF-Biochar in the regulation of spinach growth attributes, nutrient concentrations, and antioxidant enzymes in mitigating drought stress. *Plant Stress*, *10*, 1-13. http://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100205

Ang, L. Z. P., Hashim, R., Sulaiman, S. F., Coulibaly, A. Y., Sulaiman, O., Kawamura, F., & Salleh, K. M. (2015). In vitro antioxidant and antidiabetic activities of Gluta torquata. *Industrial Crops and Products*, *76*, 755–760. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.065

Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of *Plant Biol*ogy, *55*, 373-399. http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701

Atta, M. B. (2003). Some characteristics of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, *83*, 63-68. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00038-4

Auge, R. M. (2001). Water relations, drought, and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, *11*, 3-42. http://doi.org/10.1007/s005720100097

Bazi Zlan, R., Fazeli, A., Zarei, B., & Erfani Moghadam, J. (2022). The effect of salicylic acid on the activity of catalase and peroxidase enzymes and the content of phenol and flavonoid of (*Scrophularia striata* L.) under water deficit stress. *Journal of Plant Biological Sciences*, *13*(4), 57-68. http://doi.org/10.22108/ijpb.2022.133824.1288 [In Persian]

Begum, N., Qin, C., & Ahanger, M. A. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation under stress

conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, *38*, 709–722. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068

Blum, A. (2011). *Plant Breeding for Water-Limited Environments* (Vol. XIV). Springer. http://doi.org/10.1007/978-1-4419-7491-4

Chandrasekaran, M., Chanratana, M., Kim, K., Seshadrim, S., & Sa, T. (2019). Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis, water status, and gas exchange of plants under salt stress: a meta-analysis. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 457. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00457

Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, *30*(3), 239–264. http://doi.org/10.1071/FP02076

Dal Cortivo, C., Barion, G., Ferrari, M., Visioli, G., Dramis, L., & Panozzo, A. (2018). Effects of field inoculation with VAM and bacterial consortia on root growth and nutrient uptake in common wheat. *Sustainability*, *10*, 3286. https://doi.org/10.3390/su10093286

Demmig-Adams, B., Hodges, A. K., Polutchko, S. K., & Adams, W. W., III. (2025). Zeaxanthin and other carotenoids: Roles in abiotic stress defense with implications for biotic defense. *Plants*, 14(17), 2703. https://doi.org/10.3390 /plants14172703

Dhanasekar, R. & Dhandapani, R. (2012). Effect of biofertilizers on the growth of *Helianthus annuus*. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, *2*, 143–147. https://fortunejournals.org/ojs/index.php/jpaif/article/view/19590

Erulan, V., Soundarapandian, P., Thirumaran, G., & Ananthan, G. (2009). Studies on the effect of *Sargassum polycystum* (C. Agardh) extract on the growth and biochemical composition of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. *American- Eurasian Journal* of *Agriculture and Environment*. *Science*, *6*(4), 392-399. https://doi.org/10.1007/s10811-022-02872-2

Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., & Rehman, H. (2009a). Exogenously applied nitric oxide enhances drought tolerance in fine-grain aromatic rice. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *195*, 254-261. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00367.x

Farooq, M., Wahid, A., & Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009b). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, *29*, 185–212. https://doi.org/10.1051/agro:2008021

Farshi, A. A., Seyadat, H., Darbandi, ., Entesari, M. R., Khairabi, J., Mir Latifi, M., Salamat, A. R., & Sadat Miri, M. H. (2003). *Farm Water Management*. Publications of the National Irrigation and Drainage Committee of Iran. [In Persian]

Ghamarnia, H., Khosravy, H., & Sepehri, S. (2010). Yield and water use efficiency of (*Nigella sativa* L.) under different irrigation treatments in a semi-arid region in the West of Iran. *Journal of Medicinal*

Plants Research, *4*(16), 1612-1616. https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/E37113121733.pdf

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*, 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Havaux, M. (1998). Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *Plant Physiology*, *116*(4), 1595–1601. http://doi.org/10.1111/tpj.12386

Herzog, V., & Fahimi, H. (1973). Determination of activity of peroxidase. *Anal. Biochem*, *55*, 554–562. http://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90144-9

Jahed, P., Sedghi, M., Sharifi, R. S., & Sofallan, O. (2023). Effect of priming on germination traits and antioxidant enzymes of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds with different vigor under drought stress. *Journal of Agricultural Sciences*, *29*(2), 491-506. http://doi.org/10.15832/ankutbd.1067305

Kaur, E., Bhardwaj, R. D., Kaur, S., & Grewal, S. K. (2021). Drought stress-induced changes in redox metabolism of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Indian Journal of Plant Physiology*, *26*, 347–358. https://doi.org/10.1007/s42977-021-00084-2

Khorramdel, S., Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M., & Ghorbani, R. (2016). Evaluation of inoculation with nitrogen and phosphorus biofertilizers on yield and radiation use efficiency of black cumin (*Nigella sativa* L.) under Mashhad climatic conditions. *Journal of Plant Nutrition*, *39*, 2015-2024. https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1161793

Kong, H., Meng, X., Akram, N. A., Zhu, F., Hu, J., & Zhang, Z. (2023). Seed priming with fullerol improves seed germination, seedling growth, and antioxidant enzyme system of two winter wheat cultivars under drought stress. *Plants*, *12*(6), 1-14. https://doi.org/10.3390/plants12061417

Kranner, I., Beckett, R. P., Wornik, S., Zorn, M., & Pfeifhofer, H. W. (2002). Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *The Plant Journal*, *31*(1), 13-24. http://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01329.x

Kumar, A., Hart, P., & Thakur, V. K. (2024). Seaweed-based hydrogels: Extraction, gelling characteristics, and applications in the agriculture sector. *ACS Sustainable Resource Management*, 1(9), 1876–1905. https://doi.org/10.1020/acssusresmgt.4c0003

Lichtenthaler, K., & Welburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, *11*, 591-592. http://doi.org/10.1042/bst0110591

Malboobi, M. A., Zamani, K., Lohrasebi, T., Sarikhani, M. R., Samaian, A., & Sabet, M. S. (2014). Phosphate: the silent challenge. *Progress in Biological Sciences*, *4*(1), 1-

32.http://doi.org/10.22059/pbs.2014.50302

Malhotra, S. K. (2004). *Nigella*. In: K. V. Peter (Ed.), Handbook of Herbs and Spices, *2*, 206–214. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Maria, V., Gureeva, & Artem, P. Gureev. (2023). Molecular mechanisms determining the role of bacteria from the genus *Azospirillum* in plant adaptation to damaging environmental factors. *Molecular Sciences*, *24*, 11. https://doi.org/10.3390/ijms24119122

Menconi, M., Sgherri, C. L. M., Pinzino, C., & Navari-Izzo, F. (1995). Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit programme. *Journal of Experimental Botany*, *46*, 1123-1130. http://doi.org/10.1093/jxb/46.9.1123

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, *7*(9), 405-410. https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, *59*, 651–681. http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867-880. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232

Narasimha R, G. M., & Chatterjee, R. (2014). Effect of seaweed liquid fertilizer from *Gracilaria textorii* and *Hypnea musciformis* on seed germination and productivity of some vegetable crops. *Universal Journal of Plant Science*, *2*, 115-120. http://doi.org/10.13189/ujps.2014.020701

Naseem, H., & Bano, A. (2014). Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 689-701. http://doi.org/10.1080/17429145.2014.902125

Rai, V., Singh, A., & Kumar, S. (2020). Biofertilizers and drought tolerance: Effects on photosynthetic pigments and plant growth. *Plant Stress Biology*, *12*(3), 101–113. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.516818

Sarikhani, M. R., Khoshru, B., & Greiner, R. (2019). Isolation and identification of temperature-tolerant phosphate-solubilizing bacteria as a potential microbial fertilizer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *35*, 126. http:/doi.org/10.1007/s11274-019-2702-1

Sharma, M., Gupta, S. K., Majumder, B., Maurya, V. K., Deeba, F., Alam, A., & Pandey, V. (2017). Salicylic acid-mediated growth, physiological and proteomic responses in two wheat varieties under drought stress. *Journal of Proteome*, *163*, 28–51. http://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.05.011

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). Mycorrhizal Symbiosis (3rd ed.). Academic Press.

Tunc-Ozdemir, M.; Miller, G.; Song, L. H.; Kim, J.; Sodek, A.; Koussevitzky, S.; Misra, A. N.; Mittler, R.; Shintani, D. (2009). Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, *151*, 421–432. http://doi.org/10.1104/pp.109.140046

Turan, M., Ataoglu, N., & Sahin, F. (2006). Evaluation of the capacity of phosphate-solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. *Journal of Sustainable Agriculture*, *28*, 99-108. http://doi.org/10.1300/J064v28n03_08

Tohidi, Z., Sobhanian, H., & Baghizadeh, A. (2026). Comparison of morphological and physiological traits of three ecotypes of *Teucrium polium* L. under drought stress and evaluation of drought-tolerant genes MYB and LEA in the tolerant ecotype. *Journal of Plant Biological Sciences*, *18*(1), 69-86. http://doi.org/.22108/IJPB.2026.147569.1426 [In Persian]