Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Crop Production

Print ISSN: 2008- 739x
Online ISSN: 2008- 7403

Iranian Society of Agronomy and Plant Breeding Sciences

The effect of seed pre-treatment on some quantitative, biochemical traits and oil percentage of Black cumin (*Nigella sativa* L.)

Zeinab Zare Rahmat Abad[1*], Mohammad Mehdi Mirzaei [2], Shiva Taheri[3]

[1] (Corresponding Author) Former PhD Student in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Gorgan, Iran. Email: Zarezeinab3@gmail.com

[2] PhD. Student of Agronomy, Faculty of Crop Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: mohands-mirzaei@yahoo.com

[3] PhD. Student of Agroecology, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Gorgan, Iran, Email: taheri_shiva@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
2025-4-19
2025-12-9

Keywords:
Antioxidant
Bioazospire
Pre-treatment
Oil percentage
Mycorrhiza

ABSTRACT

Background and objectives: Black seed (*Nigella sativa* L.), is one of the most important species belonging to the Ranunculaceae family, which has various problems in seed germination. Due to insufficient embryo development, black seed seeds have a dormant characteristic that causes non uniform growth of seedlings. Since germination is considered very important for a healthy seedling crop with appropriate density and high yield, the use of priming technique as a pretreatment to improve seed functions is one of the most important recommended scientific solutions. For this purpose, this experiment was designed and implemented to investigate the effect of different seed pretreatments on some quantitative and qualitative traits of black seed in the climatic conditions of Gorgan.

Materials and methods: This experiment was carried out in the form of a randomized complete block design in three replications at the Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Golestan Province in the crop year 2021-2022. The experimental treatments include nine different pre-treatments, such as fertile phosphate, Phosphorus-Zinc (containing 10% phosphorus and 10% zinc), *Trichoderma* fungus (Bioran company), zinc (zinc sulfate), mycorrhizal fungus (*Funneliformis mosseae* species), Bioazospire (containing *Azotobacter* sp., *Azospirillum* and *Bacillus*), Molybdenum (ammonium molybdate), humic acid (46% ligno-humex) and control. The amount of seed used in this research was considered to be 2.5 grams per plot based on the weight of 1,000 seeds and optimal density (100 plants per square meter). The used seed (an Indian variety) was prepared at the Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Golestan Province. In this experiment, traits such as the height of the plant, the height of the first branch, the root length, the total weight of the plant, the weight of the capsule in the plant, the number of follicles in the capsule, the weight of the seeds in the capsule, the total weight of the seeds in the plant, the percentage of oil, total phenol, Flavonoids, and antioxidants were measured. Finally, the statistical analysis of the data was calculated using SAS statistical software, and the average comparison of the data was calculated using the LSD test at the probability level of one percent.

Result: The results of this research showed that seed pre-treatment significantly affected all studied traits except the number of follicles. The comparison of the average traits showed that the maximum height, with an average of 77.22 cm, was observed in plants treated with molybdenum. The maximum height of the first secondary branch (15.16 cm) and the highest amount of antioxidants (66.19 mg/g) were assigned to pre-treatment with mycorrhizal fungi. The highest weight of the total plant (17 g), the maximum weight of the capsule in the total plant (8.37 g), the highest weight of the seeds in the capsule (0.22 g), and the maximum weight of the total seeds in the plant (6.10 g) in fertilizer pre-treatment Bioazospire were observed. Also, in this research, the maximum root length (14.44 cm), the highest oil percentage (27.99%), the highest amount of total phenol (22.53 mg/g), and the maximum amount of flavonoid (9.33 mg/g) were obtained from pre-treatment with humic acid. In the simple correlation study of grain yield traits (total grain weight) with the studied traits, the traits total plant weight (0.78), capsule weight per plant (0.87) and seed weight per capsule (0.61) had positive correlation coefficients with grain yield. Also, based on these results, total phenol (0.97), antioxidant (0.86) and flavonoid (0.86) showed positive and significant correlation with oil percentage.

Conclusion: The results of this study indicated a significant effect of seed pre-treatment on all studied traits. Among these pre-treatments, Bioazospire, humic acid, mycorrhiza, and molybdenum improved vegetative and functional traits. In general, based on the results of this research, if the aim is to increase seed yield or oil percentage, bioazospire and humic acid can be used as seed pre-treatments, respectively.

Cite this article: Zare Rahmat Abad, Z., Mirzaei, M.M., Taheri, Sh.. 2026. The effect of seed pre-treatment on some quantitative, biochemical traits and oil percentage of Black cumin (*Nigella sativa* L.). *Crop Production Journal*, 19(1), 119-144.

© The author(s)

10.22069/ejcp.2026.23643.2685

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تولید گیاهان زراعی
شاپا چاپی: ۲۰۰۸-۷۳۹x
شاپا الکترونیکی: ۲۰۰۸-۷۴۰۳

تأثیر پیش‌تیمار بذر بر برخی صفات کمی، بیوشیمیایی و درصد روغن سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)

زینب زارع رحمت‌آباد[1*]، محمد مهدی میرزایی[2]، شیوا طاهری[3]

[1] (نویسنده مسئول) دانشجوی سابق دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان. رایانامه: Zarezeinab3@gmail.com

[2] دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، رایانامه: mohands-mirzaei@yahoo.com

[3] دانشجوی دکتری اگرواکولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران: taheri_shiva@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت:۱۴۰۴/۲/۱۸
تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۱۰/۱

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدان
بیو آزوسپیر
پیش‌تیمار
درصد روغن
مایکوریز

چکیده

سابقه و هدف: سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) از مهم‌ترین گونه‌های متعلق به خانواده Ranunculaceae مشکلات مختلفی در جوانه‌زنی بذر دارد. به‌دلیل رشد ناکافی جنین، بذور سیاه‌دانه دارای ویژگی خواب هستند که باعث رشد غیر یکنواخت نهال‌ها می‌شود. از آنجایی که جوانه‌زنی برای محصول گیاهچه سالم با تراکم مناسب و عملکرد بالا بسیار مهم تلقی می‌شود، استفاده از تکنیک پرایمینگ به‌عنوان پیش‌تیمار بهبود دهنده کارکردهای بذر از مهمترین راهکارهای علمی توصیه شده می‌باشد. بدین منظور این آزمایش به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر برخی از صفات کمّی و کیفی سیاه‌دانه در شرایط اقلیمی گرگان طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۹ پیش‌تیمار مختلف مانند فسفات بارور، فسفر- روی (حاوی ۱۰ درصد فسفر و ۱۰ درصد روی)، قارچ تریکودرما (شرکت Biorun)، روی (سولفات روی)، قارچ میکوریزا (*Funneliformis mosseae* sp.)، بیوآزوسپیر (شامل باکتری‌های *Azotobacter* sp.، *Azospirillum*، *Bacillus*)، مولیبدن (مولیبدات آمونیوم)، اسید هیومیک (۴۶ درصد لیگنو-هومکس) و شاهد بودند. مقدار بذر مصرفی در این تحقیق بر اساس وزن هزار دانه و تراکم بهینه (۱۰۰ بوته در متر مربع) ۲/۵ گرم در کرت در نظر گرفته شد. بذر مورد استفاده (توده هندی) در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه شد. در این آزمایش صفاتی مانند ارتفاع گیاه، ارتفاع اولین شاخه جانبی از زمین، طول ریشه، وزن کل بوته، وزن کپسول در بوته، تعداد فولیکول در کپسول، وزن دانه در کپسول، وزن کل دانه در بوته، درصد روغن، فنل کل، آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید اندازه‌گیری شد. در نهایت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که پیش‌تیمار بذر بر تمامی صفات مورد مطالعه به جز تعداد فولیکول تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین ارتفاع با میانگین ۷۷/۲۲ سانتی‌متر در گیاهان تیمار شده با مولیبدن مشاهده شد. بیشترین ارتفاع اولین شاخه فرعی (۱۵/۱۶ سانتی‌متر) و بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان (٦٦/۱۹ میلی‌گرم بر گرم) به پیش تیمار با قارچ‌های میکوریزا تعلق گرفت. بیشترین وزن کل بوته (۱۷ گرم)، حداکثر وزن کپسول در بوته (۸/۳۷ گرم)، بیشترین وزن دانه در کپسول (۰/۲۲ گرم) و حداکثر وزن کل دانه در بوته (٦/۱۰ گرم) در پیش‌تیمار بیوآزوسپایر مشاهده شد. همچنین در این تحقیق بیشترین طول ریشه (١٤/٤٤ سانتی‌متر)، بیشترین درصد روغن (۲۷/۹۹ درصد)، بیشترین میزان فنل کل (۲۲/۵۳ میلی‌گرم در گرم) و بیشترین مقدار فلاونوئید (۹/۳۳ میلی‌گرم بر گرم) در پیش‌تیمار با اسید هیومیک به‌دست آمد. در بررسی همبستگی ساده صفات عملکرد دانه (وزن کل دانه) با صفات مورد بررسی، صفات وزن کل بوته (۰/۷۸)، وزن کپسول در کل بوته (۰/۸۷) و وزن دانه در کپسول (۰/٦۱) ضرایب همبستگی مثبتی با عملکرد دانه داشتند. همچنین بر اساس این نتایج فنل کل (۰/۹۷)، آنتی‌اکسیدان (۰/۸٦) و فلاونوئید (۰/۸٦) با درصد روغن همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق حاکی از تأثیر معنی‌دار پیش‌تیمار بذر بر تمامی صفات مورد مطالعه بود. از میان این پیش تیمارها، بیوآزوسپیر، اسید هیومیک، میکوریزا و مولیبدن صفات رویشی و عملکردی را بهبود بخشیدند. به‌طور کلی بر اساس نتایج این تحقیق، اگر هدف افزایش عملکرد یا درصد روغن باشد، می‌توان از بیوآزوسپیر و اسید هیومیک به ترتیب به‌عنوان پیش‌تیمار بذر استفاده نمود.

استناد: زارع رحمت‌آباد، زینب؛ میرزایی، محمدمهدی؛ طاهری، شیوا. (۱٤۰۵). تأثیر پیش‌تیمار بذر بر برخی صفات کمی، بیوشیمیایی و درصد روغن سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.). *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱۹ (۱)، ۱٤٤-۱۱۹.

© نویسندگان
ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

10.22069/ejcp.2026.23643.2685

مقدمه

گیاهان دارویی، به‌ویژه گیاهانی که دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع هستند، در جوامع علمی و پزشکی مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته‌اند. سیاه‌دانه با نام علمی (*Nigella sativa* L.) یکی از مهمترین گونه‌های متعلق به خانواده Ranunculaceae و با پیشینه تاریخی است (۱). این گیاه به طور طبیعی در جنوب غربی آسیا و منطقه مدیترانه رشد می‌کند (۲). دانه و روغن آن صدها سال است که در طب سنتی به ویژه در آسیا و آفریقا و به‌عنوان ادویه در بسیاری از نقاط جهان، به‌ویژه در خاورمیانه و هند مورد استفاده قرار گرفته است (۳، ٤). سیاه‌دانه با ۲۹/۲–۲٤/۸ درصد اسیدهای چرب اشباع شده و ۷۳/۵–٦۹/۷ درصد اسیدهای چرب غیراشباع، به‌عنوان منبع ارزشمند روغن خوراکی شناخته شده است (۵). گرایش روز افزون به استفاده از گیاهان دارویی در جهان، نگرانی‌ها را در مورد فرآیندهای کشت و تولید آن‌ها افزایش داده است (۱). بذر یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌باشد. جوانه‌زنی از پارامترهای کیفی بذر است که نقش تعیین‌کننده‌ای در استقرار مناسب گیاهچه و موفقیت بعدی آن در مراحل بعدی رشد گیاه دارد (٦). در کشت گیاهان دارویی و معطر مشکلات مختلفی در جوانه‌زدن بذر برخی از گیاهان رخ می‌دهد (۷). جوانه‌زدن بذرهای سیاه‌دانه و رشد گیاهچه‌ها چالش بزرگی برای دستیابی به سطوح بالای رشد و بهره‌وری این محصول است. بذرهای سیاه‌دانه به دلیل رشد ناکافی جنین‌ها دارای ویژگی‌های خواب هستند که این امر موجب رشد غیر یکنواخت گیاهچه‌ها به‌ویژه در شرایط دیم با محتوای رطوبت نامطلوب می‌شود (۸، ۹). جوانه‌زنی سریع و یکنواخت بذر برای استقرار گیاهچه و تولید محصولات کشاورزی امری بسیار مهم تلقی می‌شود. در دهه‌های اخیر، تحقیقات گسترده‌ای برای بهبود بنیه بذر، زنده ماندن و استقرار گیاهچه، به‌ویژه در شرایط شوری و خشکی انجام شده است (۱۰). برای بهبود بنیه بذر، بذرها اغلب در معرض تیمار قبل از جوانه‌زنی قرار می‌گیرند، فرآیندی که به‌عنوان پرایمینگ یا پیش‌تیمار بذر توصیف می‌شود (۱۱). پیش‌تیمار بذر یک فناوری ساده و مؤثر برای اطمینان از سبز شدن همگن، همزمان و سریع بذر است و در نتیجه منجر به عملکرد بهتر محصول می‌شود (۱۲، ۱۳). این روش درصد جوانه‌زنی را بهبود می‌بخشد و همچنین استقرار یکنواخت گیاهچه را تضمین می‌کند (۹، ١٤). مطالعات نشان داده است که پیش‌تیمار بذر می‌تواند عملکرد بذر و گیاهچه را در گونه‌های متعدد افزایش دهد (۱۵). برخی از عوارض جانبی پیری بذر را کاهش دهد و با تولید بیشتر ATP در نوک ریشه منجر به افزایش سنتز پروتئین شود (١٦). همچنین گزارش شده است پیش‌تیمار بذر موجب زودرسی و تحمل بیشتر به آفات در محصولات زراعی می‌شود (۱۷). تکنیک‌های پیش‌تیمار بذر با خیساندن بذرها در عوامل مختلف از جمله آب، هورمون‌ها، نمک‌ها، ویتامین‌ها، مواد آلی و معدنی، عوامل بیولوژیک و غیره باعث تحریک و تقویت جوانه‌زنی بذر می‌شود (۱۸). بر اساس عامل مورد استفاده، پیش‌تیمار بذر به عنوان هیدروپرایمینگ، هالوپرایمینگ، اسموپرایمینگ، بیوپرایمینگ، پرایمینگ هورمونی، پرایمینگ ماتریس و پرایمینگ مواد مغذی (مغذی پرایمینگ) طبقه‌بندی می‌شود (۱۹). پرایمینگ مغذی یا پیش‌تیمار با ریز مغذی‌ها، روشی است که در آن بذرها در محلول‌های ریزمغذی قبل از جوانه‌زنی یا کاشت قرار می‌گیرند (۲۰). پوشش بذر با عوامل بیولوژیکی نیز یکی از روش‌های تقویتی است که می‌تواند تحمل به تنش‌ها را بهبود بخشد و جوانه‌زنی بذر، شاخص‌های گیاهچه و راندمان رشد را در گیاهان مختلف افزایش دهد (۲۱). استفاده از

تیمارهای فیزیکوشیمیایی مصنوعی نیز می‌تواند با بهبود عملکرد بذر و سرعت جوانه‌زنی بذر به سبزشدن سریع‌تر و یکنواخت‌تر کمک کند (۲۲). در سال‌های اخیر، بسیاری از محققان بر روی بهبود کیفیت بذر سیاه‌دانه کار کرده‌اند، تا مشکلات ناشی از بذر را از بین ببرند (۲۳). در این میان، دومان و زیبک (۲۰۱٤) از تیمارهای مختلف پیش‌تیمار بذر برای حل این مشکلات و دستیابی به سطح کیفی مطلوب بذر استفاده نمودند (۲٤). نتایج سیدی و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر پیش‌تیمار بذر (بدون پیش‌تیمار، پیش‌تیمار با آب و پیش‌تیمار با فسفر) بر ترکیب اسیدهای چرب و رشد سیاه‌دانه نشان داد، پیش‌تیمار با فسفر به‌طور معنی‌داری موجب کاهش زمان جوانه‌زنی و همچنین افزایش وزن هزاردانه شد (۲۵). نتایج فلاح و همکاران (۲۰۱۸) نیز در بررسی اثر پیش‌تیمار بذر در بهبود سبزشدن گیاهچه و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در سیاهدانه نشان داد، در شرایط تنش، پیش‌تیمار بذر به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد سبزشدن و محتوای پرولین گیاه می‌شود. علاوه بر این، در نتایج این محققان هیدروپرایمینگ و اسید جیبرلیک بیشترین وزن خشک گیاهچه را تولید نمودند (۲٦). نتایج ال-مهروک و همکاران (۲۰۲۱) نیز حاکی از اثرات مثبت پیش‌تیمار بذر سیاهدانه می‌باشد، به‌طوری‌که پیش‌تیمار بذر در مقایسه با شاهد موجب افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی شد (۲۷). اثر مثبت اسموپرایمینگ بر جوانه‌زنی سیاه‌دانه در نتایج کایاستین (۲۰۲۲)، نشان داده شده است. در نتایج این محقق مشخص شد، بین شاخص جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه-زنی، طول ریشه، ارتفاع ساقه و وزن تر و خشک گیاهچه تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری‌که پیش‌تیمار بذر موجب بهبود جوانه‌زنی شده و بر روی پارامترهای بررسی شده تاثیر مثبتی داشت (۲۸). تان (۲۰۲٤) نیز در بررسی تیمارهای مختلف پیش‌تیمار بذر سیاه‌دانه گزارش نمود، با پیش‌تیمار بذر ارتفاع بوته از ۵۲/۳۸ به ۵۸/۹۱ سانتی‌متر و تعداد کپسول‌ها از ٤/۹۳ تا ٦/۸۱ در شاخه افزایش پیدا نمود. یافته‌های این محقق حاکی از اثرات قابل‌توجه پیش‌تیمار بذر بر پارامترهای جوانه‌زنی و ارتفاع گیاه بود (۲۹). در طی فرآیند جوانه‌زنی در حالی‌که محتوای رطوبتی بذر افزایش می‌یابد، گونه‌های فعال اکسیژن بر اثر فعالیت تنفسی میتوکندری یا فعالیت گلی‌اکسی‌زوم‌ها تولید می‌شوند. افزایش تولید و آزاد شدن گونه‌های فعال اکسیژن موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌های غشاء شده و به‌دنبال آن ساختار غشاءها سلامت خود را از دست می‌دهند (۳۰). برخی از فرآیندهای متابولیک از جمله سنتز برخی از آنزیم‌ها توسط پرایمینگ فعال می‌شوند. به‌عنوان مثال، شبکه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی همچون پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز با پرایمینگ افزایش می‌یابد که به محافظت از سلول در برابر آسیب غشایی به دلیل پراکسیداسیون لیپیدی کمک می‌کنند (۳۱). سوپراکسید دیسموتاز به سرعت رادیکال های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تجزیه می کند که سپس توسط فعالیت کاتالاز و پراکسیدازها به آب تبدیل می‌شود (۳۲). آنزیم آسکوربات پراکسیداز، پراکسید هیدروژن تولید شده در کلروپلاست را از طریق چرخه آسکوربات گلوتاتیون سم‌زدایی می‌کند (۳۳). مطالعات حاکی از فعالیت‌های بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درگیاهچه‌های پرایم شده می‌باشد (۳٤، ۳۵). در مطالعه قیاصی و همکاران (۲۰۱۹) پرایمینگ بذر منجر به افزایش سطوح فعالیت کاتالاز و پراکسیداز و کاهش اثرات منفی تنش اسمزی در طول جوانه‌زنی و رشد گیاهچه سیاه‌دانه شد. در نتایج این محققان سطوح بالای فعالیت کاتالاز و پراکسیداز باعث کاهش

غلظت پراکسید هیدروژن در سلول‌ها، کمک به تثبیت غشا و افزایش تثبیت CO2 گردید (۳۶). مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخصی از آسیب غشا عمل می‌کند. گزارش شده است که نهال‌های حاصل از بذرهای پرایم شده، محتوای MDA کمتری نیز تولید می کنند. این امر احتمالاً به دلیل کاهش آسیب رادیکال‌های آزاد و محافظت بیشتر از غشا است، بنابراین با استفاده از پرایمینگ بذر، از آسیب اسیدهای چرب غیراشباع و نشت الکترولیت جلوگیری می‌شود (۳۷). غلظت پایین‌تر MDA را می‌توان به سازماندهی مجدد غشاهای سلولی نسبت داد که پس از پرایمینگ، سیستم‌های ترمیم غشا و آنتی‌اکسیدانی بهبود می‌یابد (۳۸). وقاص مظهر و همکاران (۲۰۲۲) گزارش نمودند که پس از پرایمینگ بذر، سطح پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید به ترتیب ۷۱ و ٦٦ درصد کاهش می‌یابد. علاوه بر این، در پژوهش این محققان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به‌ترتیب به میزان ٥٦، ۲۸ و ۳۹ درصد مشاهده شد (۳۹). به‌طورکلی پرایمینگ بذر می‌تواند موجب خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، بهبود مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی، تجمع متابولیت‌هایی مانند پروتئین‌های محلول یا افزایش بیان ژن‌های مسئول سیستم دفاعی شود (٤٠). پرایمینگ همچنین می‌تواند موجب افزایش محتوای فنلی کل و غلظت فلاونوئیدها شود که در نتیجه ظرفیت آنتی اکسیدانی را برای حذف رادیکال‌های آزاد در گیاهچه‌های تیمار شده با این عوامل بهبود می‌بخشد. ترکیبات فنلی، از جمله فلاونوئیدها، عملکرد قابل توجهی در حذف ROSها و پاسخ های دفاعی گیاه دارند (٤١). اشرف و همکاران (۲۰۲۲) گزارش نمودند که پرایمینگ می تواند غلظت ترکیبات فنلی را که آغازگرهای قابل توجهی از پتانسیل آنتی اکسیدانی هستند، افزایش دهند (٤٢). از آنجایی‌که استان گلستان با اقلیم‌های مختلف آب و هوایی، بستر بسیار مناسبی برای کشت و ترویج گیاهان دارویی می‌باشد و با توجه به سازگاری سیاهدانه به شرایط آب و هوایی منطقه گرگان، این آزمایش به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمارهای مختلف بذر بر برخی از صفات کمی و کیفی سیاه‌دانه در شرایط اقلیمی گرگان طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با هدف تأثیر پش‌تیمارهای مختلف بذر بر برخی از صفات کمی، بیوشیمیایی و درصد روغن سیاه‌دانه می‌باشد. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در محل مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان در سال زراعی ۱٤۰۱-۱٤۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل نه پیش‌تیمار مختلف از جمله فسفات بارور (شرکت زیست فناور سبز)، فسفر-روی (شرکت فیتومکس و حاوی ۱۰ درصد فسفر و ۱۰ درصد روی)، قارچ تریکودرما (شرکت بیوران)، روی (سولفات روی)، قارچ مایکوریز (گونه *Funneliformis mosseae* به نام کود مایکولند از شرکت ریشه گستر ویرا با 10^7 اسپور در هر گرم)، بیوازوسپیر (شرکت دانش بنیان تمیشه و حاوی باکتری‌های‌ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و باسیلوس با جمعیت بیش از ۱۰۰ میلیون سلول زنده باکتری در هرگرم)، مولیبدن (آمونیم مولیبدات)، اسید هیومیک ٤٦ درصد (لیگنو هیومکس، تولید کمپانی آماگرو کشور چک) و شاهد بود. مقادیر استفاده از هریک از این تیمارها بر اساس مقدار توصیه شده در هر گرم بذر محاسبه شد. قبل از عملیات آماده‌سازی زمین و اجرای نقشه آزمایشی، جهت شناسایی وضعیت خاک محل انجام آزمایش، نمونه مرکب از عمق صفر تا ۳۰

سانتی‌متری خاک تهیه شد. نتایج این نمونه‌برداری در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1. Physical and chemical properties of the soil

کربن آلی Organic carbon	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($ds.m^{-1}$)	اسیدیته PH	بافت خاک Soil texture
1.7	1.1	7.6	سیلت-لومی silt-loam

میزان بذر مصرفی در این پژوهش، بر اساس وزن هزاردانه و تراکم مطلوب (۱۰۰ بوته در متر مربع)، به‌ازای هر کرت ۲/۵ گرم در نظر گرفته شد. بذر مورد استفاده (توده هندی) از جهاد دانشگاهی استان گلستان تهیه گردید. برای پرایمینگ، قبل از شروع آزمایش بذرها با استفاده از محلول هیپوکلرید سدیم ۲۰ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شده و جهت حذف مواد ضدعفونی کننده، بذرها سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از این مرحله، بذرها به مدت ٢٤ ساعت در غلظت‌های مورد نظر پیش‌تیمارها (تعیین غلظت بر مبنای دستورالعمل مصرفی شرکت سازنده) قرار داده شدند و پس از طی مدت زمان ذکر شده، از محلول‌ها خارج و در دمای اتاق و شرایط تاریکی خشک شدند (٤٣). سپس جهت کاشت به مزرعه مورد نظر منتقل شدند. در این پژوهش ابعاد هر کرت ۲/۵×۱ متر، فاصله بین کرت‌ها نیم متر و فاصله تکرارها یک متر در نظر گرفته شد. کاشت بذر نیز در نیمه دوم آبان ماه انجام گردید. کلیه عملیات داشت از قبیل آبیاری، وجین دستی و تنک کردن در طول فصل رشد انجام شد. جهت اندازه‌گیری عملکرد ماده خشک کل و عملکرد دانه، پس از رسیدگی و نمو کامل بوته‌ها، به وسیله پلات یک متر مربعی از وسط هر کرت و با حذف اثرحاشیه، برداشت به‌صورت دستی انجام شد. به‌منظور بررسی اجزاء عملکرد نیز، از هر کرت تعداد ۱۰ بوته به‌طور تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری صفات مورد نظر صورت گرفت. در این آزمایش صفاتی همچون ارتفاع بوته، ارتفاع اولین شاخه جانبی از زمین، عمق نفوذ ریشه، وزن کل بوته، وزن کپسول در بوته، تعداد فولیکول در کپسول، وزن دانه در کپسول، وزن کل دانه در بوته، درصد روغن، فنل کل دانه، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شد. میزان روغن با استفاده از دستگاه سوکسله (مدل Behrotest R 106 S-FB شرکت سوئیس) استخراج و سپس درصد روغن محاسبه شد (٤٤). در این تحقیق محتوای فنل کل دانه با استفاده از معرف فولین-سیوکاتیو اندازه‌گیری شد (٤٥). از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئید کل استفاده گردید (٤٦). همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی به‌کمک ۲-۲ دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) محاسبه شد و با استفاده از رابطه ۱ مورد ارزیابی قرار گرفت (٤٧).

رابطه ۱

$$\text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد} = \frac{(Ac-As)}{Ac} \times 100$$

Ac عدد جذب شاهد و As عدد جذب نمونه

در نهایت تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمونLSD در سطح احتمال یک درصد محاسبه گردید. نمودارها نیز در نرم افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، پیش‌تیمار بذر در سطح احتمال یک درصد، ارتفاع بوته سیاه‌دانه را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۲). مقایسه میانگین ارتفاع بوته نشان داد، حداکثر ارتفاع با میانگین ۷۷/۲۲ و ۷۶/۵ سانتی‌متر به‌ترتیب در گیاهان تیمار شده با مولیبدن و مایکوریزا مشاهده شد. همچنین بر اساس این نتایج کمترین ارتفاع بوته متعلق به پیش‌تیمارهای فسفات بارور۲ و فسفر-روی به‌ترتیب با میانگین ۶۹/۱۱ و ۶۹/۵۵ سانتی‌متر بود (جدول ۳). نتایج بررسی‌های قبلی نشان می‌دهد، کمبود مولیبدن موجب کاهش رشد و نمو، تغییرشکل، تأخیر در گلدهی، اختلال در بازشدن گل و نمو بافت‌های زایشی می‌شود (۴۸). وجود مولیبدن باعث افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاهان می‌شود و فعالیت این آنزیم موجب افزایش تأمین نیتروژن گیاه می‌شود (۴۹). همچنین از طرفی مولیبدن یکی از اجزای آنزیم آلدهید اکسیداز می‌باشد و با توجه به اینکه این آنزیم در سنتز اکسین در گیاهان نقش دارد، بنابراین افزایش نیتروژن و اکسین ناشی از حضور مولیبدن در گیاه، موجب افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (۴۸).

تفاوت پیش‌تیمارها از نظر صفت عمق نفوذ ریشه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که حداکثر عمق نفوذ ریشه (۱۴/۴۴ سانتی‌متر) برای گیاهان پیش‌تیمار شده با اسیدهیومیک بود. کمترین میزان این صفت (۱۰/۶۶ سانتی‌متر) برای گیاهان تیمارشده با محلول روی-فسفر ثبت شد (جدول ۳). اسیدهیویک یک ترکیب آلی پیچیده که موجب بهبود ساختار خاک، افزایش در دسترس بودن مواد مغذی و تحریک رشد گیاه می‌شود (۵۰).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت پیش‌تیمارهای مختلف

Table 2. Analysis of variance of studied traits under different pretreatments

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات mean squares					
		ارتفاع بوته Plant height	طول ریشه Root length	ارتفاع اولین شاخه فرعی Height of the first branch	وزن بوته plant weight	وزن کپسول در بوته capsule weight per plant	تعداد فولیکول در کپسول No. follicle per capsule
بلوک Block	2	3.06^{ns}	1.45^{ns}	0.19^{ns}	0.88^{ns}	0.26^{ns}	0.08^{ns}
پیش‌تیمار Pre-treatment	8	24.16^{**}	3.50^{*}	23.08^{**}	16.88^{**}	5.31^{**}	0.11^{ns}
خطای آزمایش Error	16	3.14	0.93	1.53	2.02	0.41	0.05
ضریب تغییرات C.V.(%)		2.4	7.6	11.5	10.5	10.1	3.8

^{ns} غیر معنی‌دار. * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد

^{ns}: Non significant, * and ** significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه تحت پیش‌تیمارهای مختلف

Continiue Table 2. Analysis of variance of studied traits under different pretreatments

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات mean squares						
		وزن دانه در کپسول seed weight per capsule	وزن کل دانه در بوته Total seed weight per plant	عملکرد بیولوژیک Biological yield	درصد روغن Oil percentage	فنل کل Total phenol	فلاونوئید flavonoid	آنتی‌اکسیدان antioxidant
بلوک Block	2	0.00 *	0.18 ^{ns}	7025.93^{ns}	0.01^{ns}	0.31*	0.00 ^{ns}	0.01 ^{ns}
پیش‌تیمار Pre-treatment	8	0.00 **	3.02**	12184770.37**	18.27**	2.76**	0.40**	57.05**
خطای آزمایش Error	16	0.00	0.06	5046.76	0.21	0.08	0.05	0.08
ضریب تغییرات C.V.(%)		5.9	9.44	9.1	1.9	1.3	2.5	0.4

^{ns} غیر معنی‌دار. * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد

^{ns}: Non significant, * and ** significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت پیش‌تیمارهای مختلف

Table 3. Mean comparison of studied traits under different pretreatments

تیمار Treatment	ارتفاع بوته Plant height (cm)	طول ریشه Root length (cm)	ارتفاع اولین شاخه فرعی Height of the first branch (cm)	وزن بوته plant weight (g)	عملکرد بیولوژیک Biological yield ($kg.ha^{-1}$)
شاهد Control	72.88±0.18^{b}	12.39±0.37^{b}	10.16±0.22^{bc}	12.16±0.67^{cd}	5550.00±0.35 ^{h}
فسفات بارور۲ Fertilizer phosphate 2	69.11±0.29^{c}	13.22±0.27^{ab}	9±0.39^{cd}	15.39±0.31^{ab}	7170.00±0.23 ^{d}
فسفر-روی Phosphorus-Zinc	69.55±0.37^{c}	10.66±0.10^{c}	11.28±0.78^{b}	9.57±0.33^{e}	7060.00±0.11 ^{d}
تریکودرما Trichoderma	73.27±0.16^{b}	12.16±0.28^{bc}	9.78±0.40^{bc}	14.41±0.36^{bc}	8726.67±0.22^{c}
روی Zinc	74.77±0.11^{ab}	13.05±0.36^{ab}	14.33±0.27^{a}	12.78±0.38^{cd}	6176.67±0.32 ^{g}
مایکوریزا Mycorrhiza	76.50±0.15^{a}	11.83±0.32^{bc}	15.61±0.09^{a}	11.96±0.47^{cde}	11210.00±0.18 ^{a}
بیوآزوسپیر Bioazospire	75.44±0.09^{ab}	12.99±0.16^{ab}	7.05±0.32^{d}	17±0.30^{a}	6493.33±0.25 ^{f}
مولیبدن Molybdenum	77.23±0.27^{a}	13.44±0.37^{ab}	8.22±0.14^{cd}	15.83±0.28^{ab}	6820.00±0.32 ^{e}
اسیدهیومیک Humic acid	74.66±0.10^{ab}	14.44±0.22^{a}	11.44±0.35^{b}	11.81±0.29^{de}	10750.00±2.00^{b}

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Mean fallowed by similar letters at each column, are not significantly different at the 5% probability level.

مطالعات نشان داده‌اند، اسیدهیومیک با تأثیر بر فرایندهای فیزیولوژیکی متنوع از جمله جذب مواد مغذی، موجب افزایش ۲۰ درصدی در رشد گیاه به‌ویژه ریشه می‌شود (۵۱). در پژوهشی استفاده از اسیدهیومیک به‌عنوان پیش‌تیمار منجر به بهبود جذب مواد مغذی و افزایش رشد ریشه در گیاهان گندم تحت تنش شوری گردید (۵۲). نتایج پژوهش رائو و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد، پیش‌تیمار اسیدهیومیک موجب افزایش طول ریشه و طول ساقه در گیاه عدس شد (۵۰).

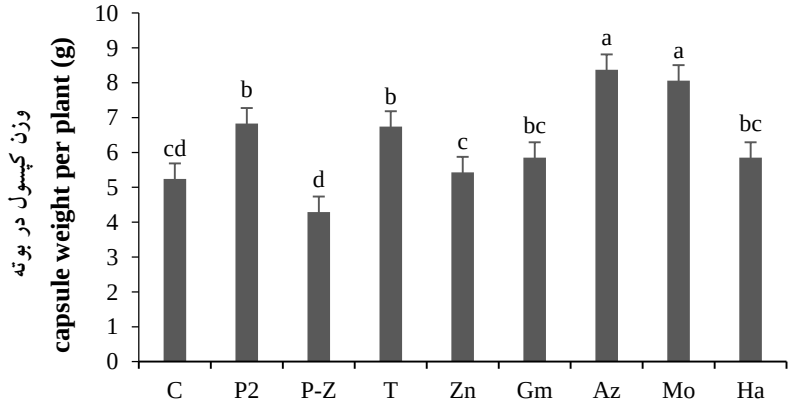
نتایج تجزیه واریانس نشان داد، ارتفاع اولین شاخه فرعی از سطح زمین تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۲). حداکثر میزان این صفت در گیاهان حاصل از بذور پیش‌تیمار شده با قارچ مایکوریزا با میانگین ۱۵/٦۱ سانتی‌متر و عنصر روی با میانگین ۱٤/۳۳ سانتی‌متر مشاهده شد. کمترین میزان این صفت (۷/۰۵ سانتی‌متر) نیز به تیمار کود زیستی بیوآزوسپیر تعلق گرفت (جدول ۳). مطالعات حاکی از تأثیر مثبت قارچ میکوریزا بر ارتفاع بوته گیاهان دارویی مختلف می‌باشد (۵۳، ٥٤). قارچ‌های مایکوریزی معمولاً منجر به مجموعه‌ای از تغییرات فنوتیپی در گیاهان میزبان می‌شوند که این تغییرات نه‌تنها در مقاومت گیاه نقش دارند، بلکه موجب بهبود وضعیت تغذیه گیاه نیز می‌شوند (۵۵). همانطور که ذکر شد، بهبود رشد رویشی و افزایش ارتفاع به‌ویژه افزایش ارتفاع اولین شاخه فرعی توسط قارچ‌های مایکوریزی احتمالاً به‌دلیل تغییرات هورمونی و تولید محرک‌های رشد و همچنین بهبود تغذیه در گیاهان می‌باشد (۵۵).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تیمارهای مورد مطالعه از نظر وزن کل بوته اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با یکدیگر داشتند (جدول ۲). بر اساس جدول مقایسه میانگین، بیشترین وزن کل بوته (۱۷ گرم) متعلق به پیش‌تیمار توسط کود زیستی بیوآزوسپیر و کمترین میزان این صفت (۹/۵۷ گرم) در پیش‌تیمار توسط فسفر-روی مشاهده شد (جدول ۳). کود زیستی آزوسپیر شامل باکتری‌های محرک رشد به‌ویژه آزوسپرولیوم است. باکتری‌های محرک رشد از جمله آزوسپریلیوم موجب افزایش رشد و عملکرد به‌دلیل تولید فیتوهورمون‌ها، تثبیت نیتروژن و انحلال فسفر می‌شوند (٥٦). این باکتری‌ها با مکانیسم‌های مختلفی از جمله بیوسنتز و آزادسازی اسیدهای آمینه، ایندول استیک اسید، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها و سایر پلی‌آمین‌ها قادر به تقویت رشد گیاه هستند (۵۷). علاوه بر این مزایا، باکتری‌های موجود در کود زیستی بیوآزوسپیر با فرایند تثبیت نیتروژن، حل فسفات، تجزیه زیستی مواد آلی خاک، تولید مواد محرک رشد و تأثیر بر بهبود ریشه، موجب جذب بهتر مواد مغذی توسط گیاهان می‌شوند (۵۸). نتایج مطالعات نشان داده است، پیش‌تیمار با آزوسپریلیوم موجب افزایش رشد از نظر ارتفاع، تعداد برگ در بوته، افزایش طول و عرض برگ و در نهایت افزایش وزن کل بوته در گیاه می‌شود (۵۹). در پژوهشی، آزوسپریلیوم منجر به افزایش زیست توده گیاهی و جذب مواد مغذی توسط گیاه شد (٥٦).

همچنین تفاوت پیش‌تیمارها از نظر عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال یک درصد دارای اختلافی معنی‌دار بود (جدول ۲). به‌طوری‌که حداکثر عملکرد بیولوژیک (۱۱۲۱۰ کیلوگرم در هکتار) متعلق به گیاهان پیش‌تیمار شده با مایکوریزا بود. کمترین میزان عملکرد بیولوژیک (۵۵۵۰ کیلوگرم در هکتار) برای گیاهان شاهد (عدم پیش‌تیمار) ثبت شد (جدول ۳). یکی از مزایایی که قارچ‌های مایکوریزی به گیاهان ارائه می‌دهند، بهبود رشد ناشی از کاهش محدودیت برای جذب مواد مغذی می‌باشد (٦۰). پیش‌تیمار با

قارچ‌های مایکوریزی موجب افزایش تغییرات هورمونی، تولید محرک‌های رشد، بهبود تغذیه و تولید متابولیت‌های ثانویه برای افزایش مقاومت در گیاهان می‌شود (٦١). گستردگی هیف‌های قارچی تا فواصل دورتر از ریشه، علاوه بر کاهش محدودیت‌های جذب مواد مغذی توسط ریشه گیاه، با ترشح آنزیم خارج سلولی فسفاتاز در هیفوسفر موجب افزایش جذب فسفر می‌شود (٦٢). مجموعه تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ایجاد شده توسط قارچ‌های مایکوریزی شامل تغییرات در فنولوژی، اندازه، ظاهر و در دسترس بودن مواد تغذیه‌ای گیاهان می‌باشد (٥٤).

نتایج تجزیه‌ی واریانس داده‌ها در جدول ۲ نشان می‌دهد که وزن کپسول در کل بوته در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مورد مطالعه قرار گرفت. حداکثر وزن کپسول در کل بوته در پیش-تیمارهای کود زیستی بیوآزوسپیر و مولیبدن به‌ترتیب با میانگین ۸/۳۷ و ۸/۰٦ گرم در بوته مشاهده شد. در این بررسی کمترین میزان این صفت (۵/٤۳ گرم) به پیش‌تیمار روی تعلق گرفت (شکل ۱). مطالعات نشان داده است، مولیبدن نقش مهمی نیز در تشکیل دانه گرده دارد، بنابراین تشکیل میوه و دانه در گیاهان دارای کمبود مولیبدن تحت تأثیر قرار می‌گیرد، بنابراین انتظار می‌رود با کاربرد مولیبدن، تعداد و وزن کپسول در سیاه‌دانه افزایش پیدا کند (٦٣). نتایج محمد و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد، تلقیح بذر توسط باکتری‌های محرک رشد از جمله آزوتوباکتر و باسیلوس موجب افزایش معنی‌دار تعداد و وزن کپسول در سیاه‌دانه شد (٦٤).

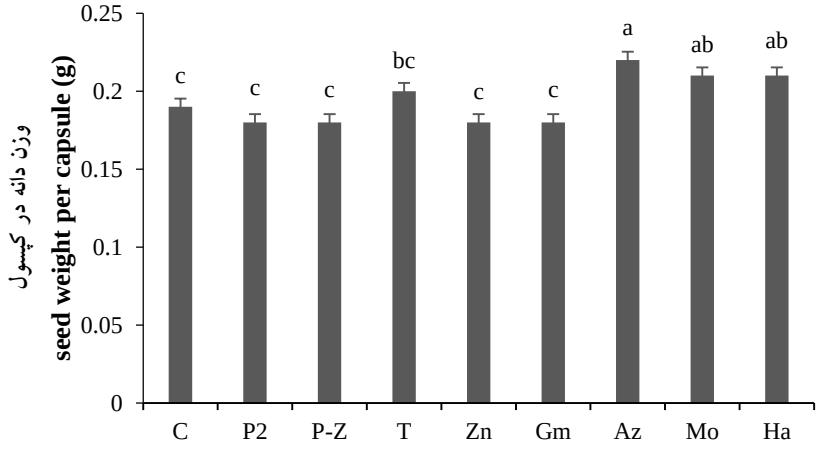


شکل ۱- مقایسه میانگین وزن کپسول در بوته تحت پیش‌تیمارهای مختلف (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

Figure 1. Mean comparison of capsule weight per plant under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, Ha= Humic acid)

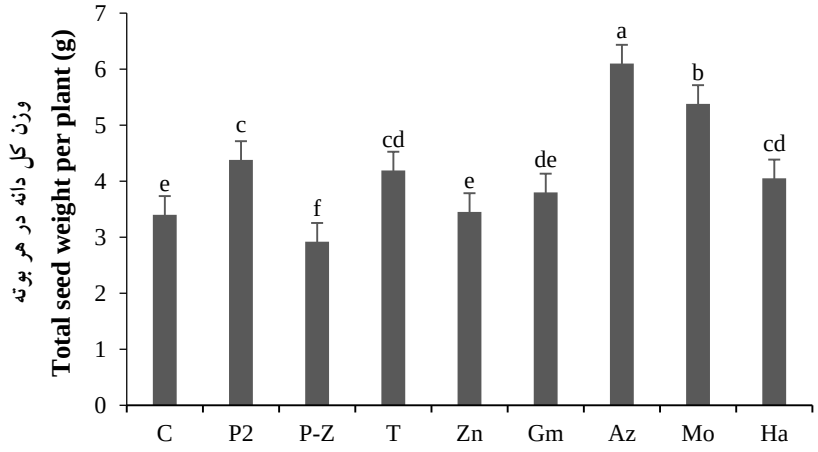
بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تعداد فولیکول تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مورد مطالعه قرار نگرفت (جدول ۲). در رابطه با صفت وزن دانه در کپسول، پیش‌تیمارهای مورد مطالعه، این صفت را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بالاترین وزن دانه در کپسول متعلق به پیش‌تیمار کود زیستی بیوآزوسپیر بود (شکل ۲). براساس نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن کل دانه در بوته، پیش‌تیمارهای مورد مطالعه این صفت را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). بر این اساس، حداکثر وزن کل دانه در بوته در پیش‌تیمار کود زیستی بیوآزوسپیر با میانگین ٦/۱۰ گرم مشاهده شد. کمترین میزان این صفت نیز به

پیش‌تیمار روی و شاهد به‌ترتیب با میانگین‌های ۳/٤٥ و ۳/٤۰ گرم تعلق گرفت (شکل ۳). پژوهش‌های متعددی در رابطه با اثرات باکتری آزوسپریلیوم بر وزن دانه و همچنین عملکرد گیاهان وجود دارد (٦٥). گیاهان تلقیح شده با آزوسپریلیوم دارای دانه‌هایی با مقادیر بیشتری از نیتروژن و فسفر بودند که این امر از دلایل افزایش وزن دانه در گیاه بود. محتوای نیتروژن بالاتر در دانه‌ها در بذور تلقیح شده با آزوسپریلیوم تا حدی به فعالیت تثبیت نیتروژن بیولوژیکی این باکتری نسبت داده شد (٥٦). همانطور که ذکر شد ریزوباکترهای محرک رشد گیاه می‌توانند مستقیماً از طریق تولید هورمون‌های گیاهی و به‌طور غیرمستقیم از طریق تثبیت نیتروژن و تولید عوامل کنترل زیستی در برابر پاتوژن‌های گیاهی موجود در خاک، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهند (٦٤). گونه‌های آزوسپوریلیوم ارگانیسم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن هستند، از سوی دیگر برخی از گونه‌های باسیلوس نیز قادر به حل کردن سنگ‌های فسفره و پتاسه هستند که باعث افزایش قابلیت دسترسی گیاه به فسفر و پتاسیم می‌شوند (٦٤، ٦٦). ال-شفیع و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند، تلقیح بذرهای گیاه با باکتری‌های مختلف تثبیت کننده نیتروژن از جمله آزوسپریلیوم و آزوتوباکتر منجر به افزایش عملکرد دانه می‌شود (٦٧). ازاز و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند، کاربرد مخلوطی از باکتری‌های محرک رشد از جمله باسیلوس و ازتوباکتر موجب افزایش تمامی پارامترهای رشدی از جمله عملکرد دانه در رازیانه شد (٦٨). در نتایج تحقیق محمد و همکاران (۲۰۲۰) نیز، بالاترین عملکرد سیاه‌دانه در تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد مشاهده شد (٦٤).



شکل ۲- مقایسه میانگین وزن دانه در کپسول تحت پیش‌تیمارهای مختلف (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

Figure 2. Mean comparison of seed weight per capsule under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, Ha= Humic acid)

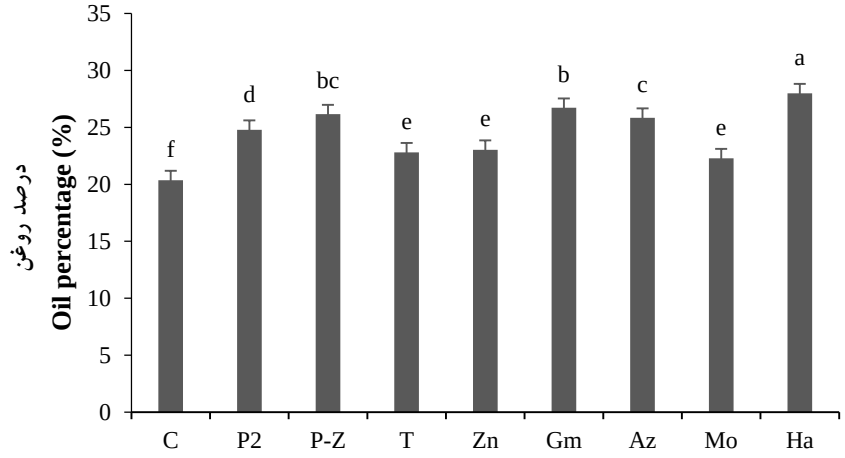


شکل ۳- مقایسه میانگین وزن کل دانه در بوته تحت پیش‌تیمارهای مختلف (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

Figure 3. Mean comparison of total seed weight per plant under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, Ha= Humic acid)

با توجه به نتایج به‌دست آمده در جدول ۱، تفاوت معنی‌داری بین پیش‌تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق از نظر درصد روغن مشاهده شد. مقایسه میانگین این صفت نشان داد، پیش‌تیمار با اسیدهیومیک بیشترین درصد روغن (۲۷/۹۹ درصد) را دارا بود. کمترین میزان این صفت (۲۰/۳۶ درصد) نیز در عدم پیش‌تیمار (شاهد) مشاهده شد (شکل ٤). اسیدهیومیک توانایی کلات‌کنندگی عناصر غذایی مختلف از جمله سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی و آهن را دارد، بنابراین می‌تواند جذب و تولید روغن در گیاهان روغنی را افزایش دهد (٦٩). نتایج مطالعات سایر محققان نیز حاکی از افزایش تولید و درصد روغن تحت تأثیر اسیدهیومیک در گیاهان روغنی می‌باشد (۷۰). در این پژوهش کاربرد پیش‌تیمار مولیبدن رتبه بعدی را پس از شاهد در کاهش درصد روغن داشت. وجود مولیبدن موجب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاهان می‌شود و فعالیت این آنزیم موجب افزایش تأمین نیتروژن گیاه می‌شود (٤٩). تحقیقات نشان داده‌اند، با افزایش مقدار نیتروژن تشکیل پیش‌زمینه‌های مواد پروتینی حاوی عنصر نیتروژن افزایش پیدا نموده، بنابراین با افزایش پروتئین، مقدار مواد در دسترس برای سنتز اسیدهای چرب، کاهش می‌یابد (۷۱). مطالعات حاکی از کاهش درصد روغن در اثر افزایش نیتروژن گیاه می‌باشد و محققان دلیل این امر را وجود رابطه منفی بین درصد روغن و پروتئین دانه بیان نموده‌اند (۷۱).

نتایج تجزیه واریانس میزان فنل کل در بذر نشان داد، بین پیش‌تیمارهای مورد استفاده از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین، بالاترین میزان فنل کل (۲۲/۵۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن بذر) از پیش‌تیمار با اسیدهیومیک حاصل شد. کمترین میزان فنل کل (۱۹/٦۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن بذر) نیز در گیاهان شاهد (عدم پیش‌تیمار) مشاهده گردید (شکل ۵). با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان فلاونوئید، تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین پیش‌تیمارهای مورد مطالعه از نظر این صفت مشاهده شد (جدول ۱).

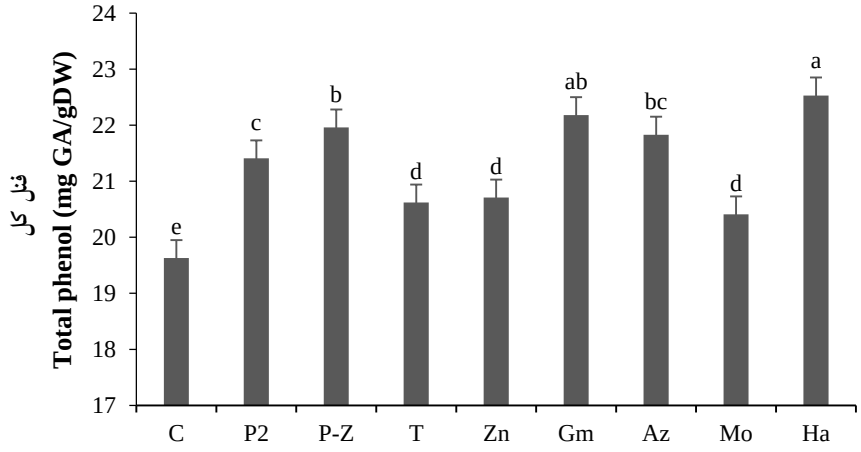


شکل ٤- مقایسه میانگین درصد روغن تحت پیش‌تیمارهای مختلف (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

Figure 4. Mean comparison of oil percentage under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, Ha= Humic acid)

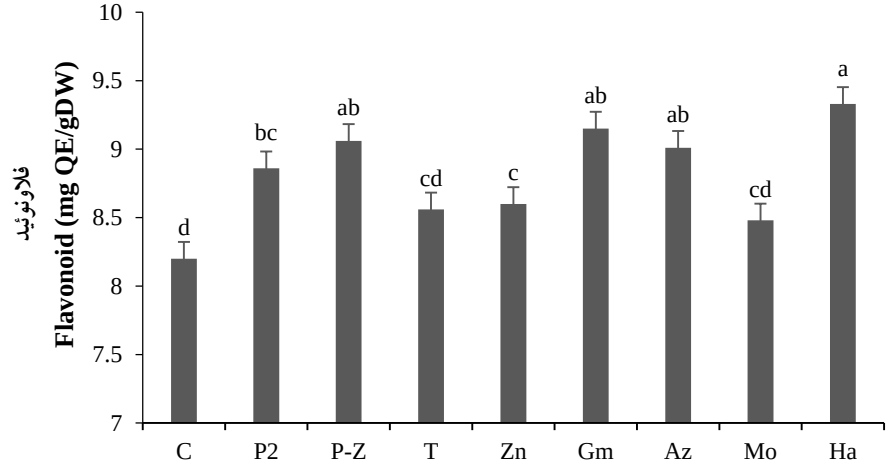
حداکثر میزان فلاونوئید (۹/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه) در پیش‌تیمار با اسیدهیومیک و حداقل این صفت (۸/۲۰ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه) در شاهد مشاهده شد (شکل ٦). در این پژوهش پیش‌تیمار با اسیدهیومیک موجب افزایش فنل و فلاونوئید در گیاه سیاه‌دانه شد. فنل‌ها از بزرگ‌ترین گروه متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که در گیاهان از مسیر شیکمیک اسید و فنیل پروپانوئید و از پیش ماده پنتوز فسفات تولید می‌شوند (۷۲). احتمالاً افزایش ترکیبات فنلی به‌دلیل تأثیر مواد هیومیکی بر هورمون‌ها می‌باشد، زیرا دانشمندان توانسته‌اند مواد شبه اکسینی و جیبرلینی را پس از استفاده از اسیدهیومیک از گیاه استخراج نمایند (۷۳). علاوه بر این ترکیبات هیومیکی با باز نگه‌داشتن روزنه‌ها و مقاوم نمودن گیاه نسبت به تنش آبی در گیاه ایجاد تنش جزئی نموده و در نتیجه موجب افزایش غلظت فنل به‌دلیل افزایش فعالیت دفاعی گیاه می‌شوند (۷٤).

از طرفی اسیدهای ارگانیک (همچون اسیدهیومیک) به‌عنوان پیش‌سازها و یا فعال‌کننده‌های متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به‌ویژه گیاهان دارویی عمل می‌کنند، بنابراین موجب افزایش محتوای فنل کل می‌شوند (۷۵). فلاونوئیدها نیز در گیاه به‌عنوان گیرنده‌های رادیکال‌های آزاد عمل نموده و از گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۷٦). مطالعات نشان داده‌اند، ترکیبات هیومیکی از طریق مکانیسم‌هایی نظیر انحلال ویتامین‌ها، ایزوآنزیم‌ها، هورمون‌ها موجب افزایش سنتز و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز می‌شود، در نتیجه منجر به افزایش میزان فلاونوئید در گیاهان می‌گردند (۷۷). همچنین نتایج تحقیقات نشان داده است که اثرات تحریک-کنندگی اسیدهیومیک موجب بهبود پاسخ گیاه به شرایط تنش می‌شود (۷۸). بسیاری از مطالعات حاکی از افزایش فلاونوئید با کاربرد اسیدهیومیک می‌باشد (۷۵، ۷۹).



شکل ۵- مقایسه میانگین فنل کل تحت پیش‌تیمارهای مختلف (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

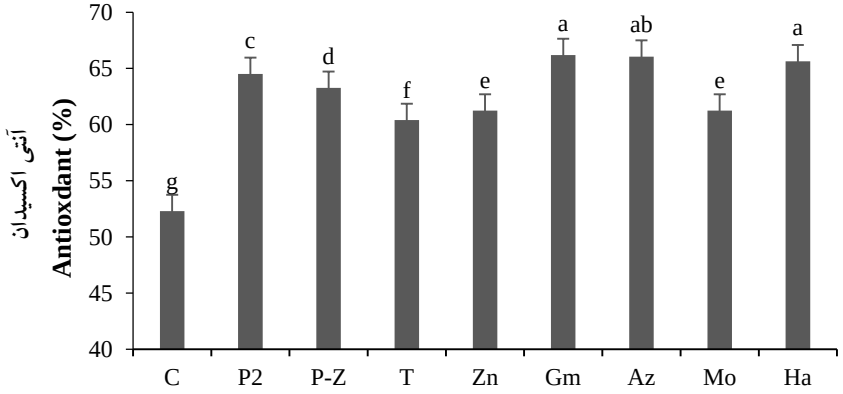
Figure 5. Mean comparison of total phenol under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, Ha= Humic acid)



شکل ٦- مقایسه میانگین فلاونوئید در پیش‌تیمارهای مختلف بذر سیاه‌دانه (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

Figure 6. Mean comparison of flavonoid under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, HA= Humic acid)

نتایج تجزیه واریانس آنتی‌اکسیدان نشان داد که بین پیش‌تیمارهای مختلف مورد استفاده از نظر این صفت در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین این صفت، بالاترین میزان آنتی‌اکسیدان با میانگین ٦٦/١٩ درصد به پیش‌تیمار با قارچ مایکوریزا تعلق گرفت. کمترین میزان این صفت (۵۲/۲۹ درصد) نیز برای گیاهان شاهد (بدون پیش‌تیمار) ثبت شد (شکل ۷). پیش‌تیمار توسط قارچ‌های مایکوریزا موجب افزایش استراتژی‌های دفاعی گیاه مانند تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تغییرات هورمونی، تولید متابولیت‌ها و تغییر مسیرهای سیگنالینگ می‌شود (۸۰). افزایش اکسیداتیو نشانه‌ای از تشخیص تنش و فعال شدن پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر قارچ‌های مایکوریز می‌باشد (۸۱). پس از اکسیداتیو، گیاهان به‌منظور از بین بردن گونه-های فعال اکسیژن تولید شده، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلفی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیدازها و ردوکتازها را تولید می‌کنند (۸۲). بنابراین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشخصه مهمی برای کاربرد پیش‌تیمار ناشی از قارچ‌های مایکوریزا هستند (۸۳). مطالعات نشان داده‌اند، تلقیح قارچ‌های مایکوریز، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به‌طور میانگین ١٦ درصد افزایش می‌دهد (٨٤). نتایج پژوهش کارول و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده‌است که کلونیزاسیون توسط قارچ‌های مایکوریز تولید آنتی‌اکسیدان‌ها، به‌ویژه پراکسیداز را افزایش می‌دهد (۸۵). نتایج درکه و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی تأثیر برخی از کودهای زیستی از جمله قارچ مایکوریزی *Glomus mosseae* بر وزن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) نشان داد، بالاترین میزان محتوای فنلی کل (١/٣٤ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم) و بالاترین فعالیت مهار DPPH (٨٦/٨ درصد) در گیاهان تیمار شده با قارچ مایکوریز مشاهده شد (٨٦).



شکل ۷- مقایسه میانگین آنتی‌اکسیدان تحت پیش‌تیمارهای مختلف (C= شاهد، P2= فسفات بارور۲، P-Z= فسفر-روی، T= تریکودرما، Zn= روی، Gm= مایکوریز، Az= بیوآزوسپیر، Mo= مولیبدن، HA= اسید هیومیک)

Figure 7. Mean comparison of antioxidant under different pretreatments (C=Control, P2= Fertilizer phosphate 2, P-Z= Phosphorus-Zinc, T= Trichoderma, Zn= Zinc, Gm= Mycorrhiza, Az= Bioazospire, Mo= Molybdenum, HA= Humic acid)

جدول ٤- ضرایب همبستگی صفات ارزیابی شده در سیاهدانه

Table 4. Correlation coefficients of traits evaluated in *Nigella sativa*

صفات مورد بررسی	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
۱- ارتفاع بوته 1. Plant height	1												
۲- طول ریشه 2. Root length	0.36	1											
۳- ارتفاع اولین شاخه فرعی 3. Height of the first branch	0.16	-0.11	1										
٤- وزن کل بوته 4. plant weight	0.27	0.39*	-0.55**	1									
٥- وزن کپسول در کل بوته 5. capsule weight per plant	0.39*	0.31	-0.58**	0.85**	1								
٦- تعداد فولیکول 6. No. follicle per capsule	-0.14	-0.05	-0.48**	0.14	0.16	1							
۷- وزن دانه در کپسول 7. seed weight per capsule	0.42*	0.47*	-0.44*	0.39*	0.52**	0.13	1						
۸- وزن کل دانه 8. Total seed weight per plant	0.45*	0.35	-0.59**	0.78**	0.87**	0.18	0.61**	1					
۹- عملکرد بیولوژیک 9. Biological yield	0.23	0.07	0.44*	-0.23	-0.07	-0.01	0.02	-0.09	1				
۱۰- درصد روغن 10. Oil percentage	-0.01	0.01	0.20	-0.19	-0.04	0.06	0.07	0.05	0.67**	1			
۱۱- فنل کل 11. Total phenol	-0.00	-0.02	0.19	-0.17	-0.01	0.05	0.04	0.07	0.63**	0.97**	1		
۱۲- فلاونوئید 12. flavonoid	-0.01	0.06	0.19	-0.21	-0.08	0.16	0.00	-0.02	0.60**	0.86**	0.81**	1	
۱۳- آنتی اکسیدان 13. antioxidant	0.07	0.12	0.10	0.12	0.24	0.01	0.13	0.30	0.56**	0.86**	0.84**	0.79**	1

*، ** به ترتیب نشان-دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

*,** significant at 5% and 1% of probability levels, respectively

در بررسی همبستگی ساده صفات عملکرد دانه (وزن کل دانه) با صفات مورد بررسی، صفات وزن کل بوته (۰/۷۸)، وزن کپسول در کل بوته (۰/۸۷) و وزن دانه در کپسول (۰/٦۱) ضرایب همبستگی مثبتی با عملکرد دانه داشتند، از این رو تغییر در این صفات منجر به تغییر در عملکرد دانه خواهد شد. شهریاری گرائی (۲۰۱٤) در نتایج رگرسیون برای عملکرد دانه در گیاه بزرک گزارش نمودند که تعداد دانه در کپسول، تعداد کپسول در بوته و وزن صد دانه، جمعا ۹۱ درصد از تغییرات مشاهده شده عملکرد دانه را توجیح نمودند (۸۷). همچنین نتایج جدول هم‌بستگی نشان داد، درصد روغن، فنل کل و فلاونوئید با عملکرد بیولوژیک همبستگی مثبت و بالایی داشتند. همچنین بر اساس این جدول، فنل کل (۰/۹۷)، آنتی‌اکسیدان (۰/۸٦) و فلاونوئید (۰/۸٦) با درصد روغن همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان دادند. مطالعات نشان داده است که رابطه مثبتی بین ترکیبات اصلی در روغن‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها وجود دارد. از طرفی خواص آنتی‌اکسدانی روغن‌ها به شدت با میزان فنولیک آن‌ها مرتبط است. ترکیبات فنولی، انتقال هیدروژن به رادیکال‌های آزاد را تسهیل می‌کند و در نتیجه توانایی روغن‌ها را در مهار فرایندهای اکسیداتیو افزایش می‌دهد (۸۸). با استناد به جدول مشاهده می‌شود که صفات فلاونوئید (۰/۸۱) و آنتی‌اکسیدان (۰/۸٤) نیز با فنل کل همبستگی معنی‌دار و بالایی دارند. محمدزاده و همکاران (۲۰۲۱) نیز همبستگی معنی‌دار و قوی را بین محتوای فنل کل، اسیدهای فنلی، فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نمودند (۸۹). همبستگی بالای محتوای آنتی‌اکسیدان کل با فنول و فلاونوئید نشان می‌دهد که مقادیر بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (۹۰). بر اساس مطالعات صورت گرفته ترکیبات فنلی مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده می‌باشد و خواص آنتی‌اکسیدانی غالباً به‌دلیل ترکیب‌های فنلی موجود در ساختار گیاهان است (۹۰).

نتایج حاصل از رگرسیون مرحله‌ای به‌روش گام به گام برای عملکرد دانه به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات اندازه‌گیری شده به‌عنوان متغیرهای مستقل در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد، وزن کپسول در بوته به‌تنهایی ۷٦ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمود و پس از آن وزن دانه در کپسول با ۰/۰۳ درصد در مدل رگرسیونی وارد گردید. این مدل ۸۰ درصد تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمود. همچنین بر اساس این نتایج، فنل کل به‌تنهایی ۹٤ درصد و پس از آن فلاونوئید ۰/۰۱ درصد از تغییرات درصد روغن را توجیه نمودند. به‌طور کلی این مدل ۹٦ درصد از تغییرات درصد روغن را توجیه نمودند (جدول ٦).

جدول ۵- نتایج رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد کل به‌عنوان متغیر تابع در برابر سایر صفات به جزء عملکرد

Table 5. Stepwise regression results for total yield as the dependent variable against other traits excluding yield component

متغیر Variable	پارامترهای مدل Parameter estimate	R2 جزء ²RPartial	R2 مدل ²R model	F
وزن کپسول در کل بوته capsule weight per plant	0.564	0.7678	0.7678	82.68**
وزن دانه در کپسول seed weight per capsule	10.576	0.0336	0.8014	4.06*
عرض از مبدأ Intercept	-1.462	-	-	2.69 ns

Y=-1.462+1x0.564+10.576x2

جدول ٦- نتایج رگرسیون مرحله‌ای برای درصد روغن به‌عنوان متغیر تابع در برابر سایر صفات به جزء درصد روغن

Table 6. Stepwise regression results for oil percentage as the dependent variable against other traits excluding oil percentage

متغیر Variable	پارامترهای مدل Parameter estimate	R2 جزء ۲RPartial	R2 مدل model ۲R	F
فنل کل Total phenol	1.97	0.9449	0.9449	428.61**
فلاونوئید flavonoid	1.35	0.0169	0.9618	10.59**
عرض از مبدأ Intercept	-29.37	-	-	172.89**

Y=-29.37+1x1.97+1.35x2

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نه ترکیب مختلف به‌عنوان پیش‌تیمار بذر سیاه‌دانه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج کلی نشان داد، تمامی صفات مورد مطالعه بجز تعداد فولیکول تحت تأثیر این پیش‌تیمارها قرار گرفتند. در این پژوهش کاربرد اسیدهیومیک موجب افزایش درصد روغن، فنل کل و فلاونوئید در مقایسه با سایر تیمارها شد. بیشترین عملکرد دانه نیز برای پیش‌تیمار با کود زیستی بیو آزوسپیر ثبت شد. بنابراین براساس نتایج این پژوهش اگر هدف افزایش عملکرد دانه و یا درصد روغن باشد می‌توان به‌ترتیب از کود زیستی بیوآزوسپیر و اسیدهیومیک به‌عنوان پیش‌تیمار بذر استفاده نمود.

References

1. Safaei, Z., Azizi, M., Davarynejad, G., & Aroiee, H. (2017). The Effect of Planting Seasons on Quantitative and Qualitative Characteristics of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Medicinal Plants and By-products*, *1*, 27-33.
2. Heiss, A. G., Kropf, M., Sontag, S., & Weber, A. (2011). Seed morphology of *Nigella Sativa* L. (Ranunculaceae): identification, diagnostic traits, and their potential phylogenetic relevance. *International Journal Plant Sciences*, *172*(2), 267–284.
3. Majeed, A., Muhammad, Z., Ahmad, H., Hayat, S. S. S., Inayat, N., & Siyyar, S. (2021). *Nigella sativa* L.: Uses in traditional and contemporary medicines–An overview. *Acta Ecologica Sinica*, *41*, 253-258. https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2020.02.001.
4. Burdock, G. A. (2022). Assessment of black cumin (*Nigella sativa* L.) as a food ingredient and putative therapeutic agent. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *128*, 105088. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.105088
5. Verma, P., Solanki, R. K., & Kakani, A. D. (2019). Genetic Variability and Correlation Analysis in (*Nigella sativa* L.) Assessed in south East Rajasthan, *India*. *8*(3), 1858-1864
6. Bright, J. P., Karunanadham, K., Maheshwari, H. S., Karuppiah, E. A. A., Thankappan, S., Nataraj, R., & et al. (2022). Seed-borne probiotic yeasts foster plant growth and elicit health protection in black gram (*Vigna mungo* L.). *Sustainability*, *14*, 4618. https://doi.org/ 10.3390/su14084618
7. Sönmez, Ç., Gökçöl, A., Şimşek Soysal, A. Ö., Bayram, E., & Celen, A. E. (2019). Research on germination and emergence performance enhancing treatments on sage (Salvia spp.) species. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, *7*, 504–510. doi: 10.24925/turjaf. v7i3.504-510.2318

8. Papastylianou, P., Bakogianni, N.N., Travlos, I., & Roussis, I. (2018). Sensitivity of seed germination to salt stress in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Notulae Botanicae Hortic Agrobotanici CLUG-NAPOCA*, *46*, 202–205, https://doi.org/10.15835/nbha46110861.
9. Fu, X., Wang, J., Shangguan, T., & Wu, R. (2022). SMXLs regulate seed germination under salinity and drought stress in soybean, *Plant Growth Regulation*, *96*(3), 397–408.
10. Reed, R. C., Bradford, K. J., & Khanday, I. (2022). Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate, *Heredity, 128*, 450 – 459.
11. Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M., & Nonogaki, H. (2013). Seeds: physiology of development, germination and dormancy.3rd ed., *Springer: New York, USA*
12. Malarkodi, K., Vedhapriya, T., Umarani, R., & Bhaskaran, M. (2022). Automation of seed priming technology for enhanced seed vigour of blackgram seeds. *Legume Research-An International Journal*, *45*(9), 1178-1184. https://doi.org/10.18805/LR-4662
13. Raj, A. B., & Raj, S. K. (2019). Seed priming: An approach towards agricultural sustainability. *Journal of Applied and Natural science*, *11*(1), 227-234. https://doi.org/10.31018/jans.v11i1.2010
14. Okello, D., Komakech, R., Gang, R., Rahmat, E., Chung, Y., Omujal, F., & Kang, Y. (2022). Influence of various temperatures, seed priming treatments and durations on germination and growth of the medicinal plant Aspilia africana. *Scientific Reports*, *12*, 1-16. 14180. https://doi.org/10.1038/s41598-022-18236-2
15. Del Egido, L.L., Toorop, P.E., & Lanfermeijer, F.C. (2018). Seed priming improves germination of Arabis alpinaunder thermo-inhibiting conditions, *Seed Science and Technology*, *46*, 285–303, https://doi.org/10.15258/sst.2018.46.2.10
16. Liu, H., Able, A. J., & Able, J.A. (2022). Priming crops for the future: rewiring stress memory. *Trends in plant science*, *27*(7), 699-716. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.11.015
17. Patade, V. Y., Bhargava, S., & Suprasanna, P. (2009). Halopriming imparts tolerance to salt and PEG induced drought stress in sugarcane. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *134* (1-2), 24-28. https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.07.003
18. Zarei, I., Mohammadi, G., Sohrabi, Y., Kahrizi, D., Khah, E. M., & Yari, K. (2011). Effect of different hydropriming times on the quantitative and qualitative characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *African Journal of Biotechnology*, *10*(66), 14844-14850. https://doi.org/10.5897/AJB11.1283
19. El-Nashar, Y.I., & Dewir, Y.H. (2019). Stimulation of germination and seedling vigor in dormant seeds of african juniper. *HortTechnology*, *29*, 874–879, https://doi.org/10.21273/horttech04452-19
20. Carvalho, A., Reis, S., Pavia, I., & Lima-Brito, J. E. (2018). Influence of seed priming with iron and/or zinc in the nucleolar activity and protein content of bread wheat, *Protoplasma, 2018*, 1–13, https://doi.org/10.1007/s00709-018-01335-1.
21. Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M. F., Magalhães, C., Janoušková, M., Vosátka, M., & et al. (2019). Seed coating with inocula of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria for nutritional enhancement of maize under different fertilisation regimes. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *65*, 31–43. doi: 10.1080/03650340.2018.1479061
22. Shelar, A., Singh, A. V., Maharjan, R. S., Laux, P., Luch, A., Gemmati, D., Tisato, V., Singh, S. P., Santilli, M. F., & Shelar, A. (2021). Sustainable Agriculture through Multidisciplinary Seed Nanopriming: Prospects of Opportunities and Challenges. *Cells*, *10*(9), 2428. https://doi.org/10.3390/cells10092428
23. Ekren, S., Paylan, I. C., & Gokcol, A. (2023). Seed quality improvement applications in black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). *Frontiers Sustainable Food Systems, 7*, 1212958. doi: 10.3389/fsufs.2023.1212958

24. Duman, İ. A., & Zeybek, G. V. E. (2014). Bazı süs bitkisi ve çim tohumlarının çimlenme ve fide çıkış performanslarının iyileştirilmesi üzerine araştırmalar" in 2010 TTUAM 003 *No'lu Bilimsel Araştırma Proje Kesin Raporu, ed. D. İbrahim (Bornova/İzmir: Ege Üniversitesi)*
25. Seyyedi, S. M., Khajeh-Hosseini, M., Rezvani Moghaddam, P., & Shahandeh, H. (2015). Effects of phosphorus and seed priming on seed vigor, fatty acids composition and heterotrophic seedling growth of black seed (*Nigella sativa* L.) grown in a calcareous soil. *Industrial Crops and Products*, *74*, 939–949.
26. Fallah, S., Malekzadeh, S., & Pessarakli, M. (2018). Seed primingimproves seedling emergence and reduces oxidative stress in Nigella sativa under soil moisture stress. *Journal of Plant Nutrition*, *41*(1), 29-40. https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381719
27. El-Mahrouk, M. E., Maamoun, M. K., Dewir, Y.H., El-Banna, A. N., Rihan, H. Z., Salamh, A., Al-Aizari, A. A., & Fuller, M. P. (2021). Synchronized Seed Germination and Seedling Growth of Black Cumin. *Horttechnology*, *32*(2), 182-190. https://doi.org/10.21273/horttech04984-21
28. Kayacetin, F. (2022). Response to direct selection against drought stress in Black cumin (*Nigella sativa* L.). *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, *2022*, 6888187. doi: 10.1155/2022/6888187
29. Tan, U. (2024). Effects of Seed Priming on Germination of Nigella sativa L. and Comparison of Germination Performance with Yield Parameters in Field Conditions. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, *12*(6), 1026-1032. https://doi.org/10.24925/turjaf.v12i6.1026-1032.6769
30. Tahmasbi, B., Ghaderi-Far, F., Sadeghipour, H. R., & Galeshi, S. (2015). Enhanced accumulation of fatty acids and lipid hydroperoxides during ageing of sunflower seeds. *Plant Process and Function*, *4*(12), 73-84.
31. Khan, B. P., Ara, N., Ali, S., Baigh, K. K., & Wahab, A. (2021). Effect of seed priming on radish with different nutrients at various soaking durations. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, *34*(1), 77-84.
32. Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, *30*, 161–175.
33. Semida, W. M., Hemida, K. A., & Rady, M. M. (2018). Sequenced ascorbate-proline-glutathione seed treatment elevates cadmium tolerance in cucumber transplants. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*, *2154*, 171–179. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.02.036.
34. Khan, M. N., Khan, Z., Luo, T., Liu, J., Rizwan, M., Zhang, J., Xu, Z., Wu, H., & Hu, L. (2020). Seed priming with gibberellic acid and melatonin in rapeseed: Consequences for improving yield and seed quality under drought and non-stress conditions. *Industrial Crops and Product*, *156*, 112850.
35. Mohamed, A. A., Castagna, A., Ranieri, A., & di Toppi, L. S. (2012). Cadmium tolerance in Brassica juncea roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, *57*, 15–22.
36.Ghiyasi, M., Siavash Moghaddam, S., Amirnia, R., & Damalas, C. A. (2019). Chemical priming with salt and urea improves germination and seedling growth of black cumin (*Nigella sativa* L.) under osmotic stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-9. 37. Kanjevac, M., Bojovi´c, B., Ciri´c, A., Stankovi´c, M., & Jakovljevi´c, D. (2023). Seed Priming Improves Biochemical and Physiological Performance of Wheat Seedlings under Low-Temperature Conditions. *Agriculture*, *13*, 2. https://doi.org/10.3390/agriculture13010002https://doi.org/10.1007/s00344-019-09922-z
38. Ali, Q., Daud, M.K., Haider, M. Z., Ali, S., Rizwan, M., Aslam, N., Noman, A., Iqbal, N., Shahzad, F., & Deeba, F. (2017). Seed priming by sodium nitroprusside improves salt

tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by enhancing physiological and biochemical parameters. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119, 50–58
39. Waqas Mazhar, M., Ishtiaq, M., Maqbool, M., Akram, R., Shahid, A., Shokralla, S., Al-Ghobari, H., Alataway, A., Dewidar, A. Z., & El-Sabrout, A. M. (2022). Seed Priming with Iron Oxide Nanoparticles Raises Biomass Production and Agronomic Profile of Water-Stressed Flax Plants. *Agronomy*, *12*, 982
40. Zulfiqar, F. (2021). Effect of seed priming on horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 286, 110197.
41. Álvarez-Robles, M. J., Clemente, R., Ferrer, M. A., Calderón, A., & Bernal, M. P. (2022). Effects of ascorbic acid addition on the oxidative stress response of *Oryza sativa* L. plants to as (V) exposure. *Plant Physiology and Biochemistry*, *186*, 232–241.
42. Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Hafeez, A., Adrees, M., ur Rehman, M. Z., Rizwan, M., & Ali, S. (2022). Effect of different seed priming agents on chromium accumulation, oxidative defense, glyoxalase system and mineral nutrition in canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Environmental Pollution*, *309*, 119769.
43. Katzman, L.S., Taylor, A. G., & Langhans, R. W. (2001). Seed enhancements to improve spinach germination. *HortScience*, 36 (5), 979-981.
44. Gharby, S., Harhar, H., Guillaume, D., Roudani, A., Boulbaroud, S., Ibrahim, M., Ahmad, M., Sultana, S., Hadda, T. B., Chafchaoni-Moussaoui, I., & Charrouf, Z. (2013). Chemical investigation of *Nigella sativa*. *Pakistan Journal of Biolpgical Sciences*, *7*(4), 441-445.
45. Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry*, *105*, 940-949.
46. Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., & Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, *32*, 43-49.
47. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*, 669–675.
48. Majda, C., Khalid, D., Aziz, A., Rachid, B., Badr, A. S., Lotfi, A., & Mohamed, B. (2019). Nutri-priming as an efficient means to improve the agronomic performance of molybdenum in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Science of The Total Environment*, *661*, 654-663.
49. Kumar, V., Kumar Singhal, R., Kumar, N., & Bose, B. (2020). Micro-nutrient seed priming: a pragmatic approach towards abiotic stress management. *New Frontiers in Stress Management for Durable Agriculture*, 231-255. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1322-0_14
50. Rao, D., Yadav, S., Choudhary, R., Singh, D., Bhardwaj, R., Barthakur, S., & Yadav, S.K. (2023). Silicic and Humic Acid Priming Improves Micro- and Macronutrient Uptake, Salinity Stress Tolerance, Seed Quality, and Physio-Biochemical Parameters in Lentil (*Lens culinaris* spp. culinaris). *Plants*, *12*, 3539. https://doi.org/10.3390/plants12203539
51. Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., & Brown, A. L. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in Agronomy*, *124*, 37–89.
52. Farooq, M., Hussain, M., Siddique, K. H. M., & Jabran, K. (2018). Seed priming with humic and silicic acids improves seed germination and seedling growth in wheat subjected to salt and osmotic stresses. *Journal of Plant Nutrition*, *41*, 451–463.
53. Khaledian, N., Weisany, W., & Schenk, P. M. (2021). Arbuscular mycorrhiza and rhizobacteria improve growth, nutritional status and essential oil production in *Ocimum basilicum* and *Satureja hortensis*, *Industrial Crops and Products*, *160*, 1-19.
54. Qu, L., Wang, M., & Biere, A. (2021) Interactive Effects of Mycorrhizae, Soil Phosphorus, and Light on Growth and Induction and Priming of Defense in Plantago lanceolata. *Frontier Plant Science*, *12*, 647372. doi: 10.3389/fpls.2021.647372
55. Kaur, S., & Suseela, V. (2020). Unraveling arbuscular mycorrhiza-induced changes in plant primary and secondary metabolome. *Metabolites*, 10, 335. doi: 10.3390/metabo10080335

56. Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Amini, J., Mehnaz, S., & Zarea, M. J. (2020). Effect of *Azospirillum zeae* and Seed Priming with Zinc, Manganese and Auxin on Growth and Yield Parameters of Wheat, under Dryland Farming. *Agricultural Research*, *10*(1), 44–55. https://doi.org/10.1007/s40003-020-00480-5
57. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability–A Review. *Molecules*, *21*, 573. https://doi.org/10.3390/molecules 21050573
58. Suhameena, B., Uma Devi, S., Gowri, R. S., & Kumar, S. D. (2020). Utilization of *Azospirillum* as a Biofertilizer – An Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, *62*(2), 141-145.
59. Hossain, M. M. D., & Jahan, I. (2015). *Azospirillum* as biofertilizer and Bangladesh perspective, *Banat's Journal Biotechnology*, *11*, 69-88.
60. Yang, Y., Liang, Y., & Han, X. (2016). The roles of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in phytoremediation and tree-herb interactions in Pb contaminated soil. *Scientifc Reports*, *6*, 1–14. doi: 10.1038/srep20469.
61. Bora, M., & Lokhandwala, A. (2016). Mycorrhizal association: a safeguard for plant pathogen. In: *Plant, Soil and Microbes, 2*, 253–275. Springer Nature. doi:10.1007/978-3-319-29573-2.
62. Johnson, N. C., Wilson, G. W. T., Wilson, J. A., Miller, R. M., & Bowker, M. A. (2015). Mycorrhizal phenotypes and the law of the minimum. *New Phytologist*, *205*, 1473–1484. doi: 10.1111/nph.13172
63. Reddy, M. M., Padmaja, B., Malathi, S., & Rao, L. J. (2007). Effects of micronutrients on growth and yield of pigeonpea. *Journal of SAT Agricultural Research*, *5*(1), 1–3
64. Mohamed, N. H., Hassan, E. A., Damad, El. H., & Khater Rania, M. R. (2020). Response of black cumin (*Nigella sativa* L.) plants to the addition of natural fertilizers and the inoculation by bacteria mix and seaweed liquid extract. *Archives of Agriculture Sciences Journal*, *3*(2), 1-15.
65. Piccinin, G. G., Dan, L. G. M., Braccini, A. L., Mariano, D. C., Okumura, R. S., Bazo, G., & Ricci, T. T. (2011). Agronomic efficiency of *Azospirillum brasilense* in physiological parameters and yield components in wheat crop. *Journal Agronomy*, *10*, 132–135.
66. Han, H. S., & Lee, K. D. (2005). Phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of eggplant. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *1*(2), 176-180.
67. El-Shafie, S. A., El-Kholey, S. A., Mazron, M. M., & Afify, M. M. (2009). Influence of bio and chemical nitrogen fertilizers on the growth, yield and active constituents of *Ammi visnaga* L. plant. *Menoufia Journal of Agriculture Research*, *35*(1), 245-266.
68. Azzaz, N. A., Hassan, E. A., & Hamad, E. H. (2009). The chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of fennel plants treated with organic and biofertilizer instead of mineral fertilizer. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *3*(2), 579-587.
69. Verlinden, G., Pycke, B., Mrtens, J., Debersaques, F., Verheyen, K., Baert, G., Bries, J., & Haesaert, G. (2009). Application of humic substances results in consistent increases in crop yield and nutrient uptake. *Journal of Plant Nutrition*, *32*, 1407-1426
70. Rahbari, A., Sinaki, J. M., Damavandi, A., & Rezvan, S. (2019). Response of castor (*Ricinus cummunis* L.) to foliar application of zinc nano-chelate and humic acid under limited irrigation. *Agricultural Science and Sustainable Production*, *29*(2), 153-171. [In Persian]
71. Salehi, M., Maleki Nia, A., & Shahbazi, M. (2022). The effect of vermicompost and humic acid application on some quantitative and qualitative characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Plant Process and Function, 11*(51), 295-305. [In Persian]
72. Aberoumand, A., & Deokule, S. S. (2008). Comparsion of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition*, *7*, 582-585

73. Yildirim, E. (2007). Foliar and soil fertilization of humic acid affect productivity and quality of of tomato, *Soil and Plant Science*, *57*, 182-186
74. Ameri, A., & Tehranifar, A. (2012). Effect of humic acid on nutrient uptake and physiological characteristic. *Fragaria ananassa var Camarosa*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, *6*, 77-79
75. Aminifard, M. H., & Ghaderi, Z. H. (2018). Effects of different levels of humic acid and planting density on antioxidant activity and biochemical properties of *Trigonella foenum-graecum* L. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, *8*(1), 77-90. [In Persian]
76. Yousefi, M., Enteshari, SH., & Saadatmand, M. (2014). Effect of silicea treatment on and some morphological, anatomical and physiological characteristics of Iranian borage (*Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey). *Journal of soil and Plant Interactions Isfahan University of Technology*, *5*(18), 52-62. [In Persian]
77. Salehi, B., Bagherzadeh, A., & Ghasemi, M. (2010). Impact of humic acid on growth, properties and yield components of three tomato varieties (*Lycopersicon esculentum* L.). *Journal of Agroecology*, *2*(4), 640-647. [In Persian]
78. Luciano, P., Canellasa-Fabio, L., OlivaresaNatália, O., Aguiara-Davey, L., Jonesb, A., Nebbiosoc, P., & Mazzeic, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. *196*, 15-27
79. Aminifard, M. H., Aroiee, H., Azizi, M., Nemati, H., & Jaafar, H. Z. (2012). Effect of humic acid on antioxidant activities and fruit quality of hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, *18*(4), 360-369.
80. Jung, S. C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, J. A., & et al. (2012). Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of Chemical Ecology*, *38*(6), 651–664. doi: 10.1007/s10886-012-0134-6.
81. Mendoza, M. (2011). Oxidative burst in plant-pathogen interaction. *Biotecnología Veget*, *11*(2), 67–75.
82. Chen, X., Song, F., & Liu, F. (2014). Effect of different arbuscular mycorrhizal fungi on growth and physiology of maize at ambient and low temperature regimes. *Scientifc World Journal*, *2014*, 7. doi:10.1155/2014/956141
83. Hashem, A., Alqarawi, A. A., & Radhakrishnan, R. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the oxidative system, hormones and ionic equilibrium to trigger salt stress tolerance in *Cucumis sativus* L. Saudi *Journal of Biological Sciences*, *25*(6), 1102–1114. doi: 10.1016/j.sjbs.2018.03.009
84. Lokhandwala, A., & Hoeksema, J. D. (2019). Priming by arbuscular mycorrhizal fungi of plant antioxidant enzyme production: A meta-analysis. *Annual Plant Reviews*, *2*, 1069–1084. doi: 10.1002/9781119312994.apr0680
85. Carole, D. A., Desire, M. H., & Denis, O. N. (2018). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the dynamics of hydrogen peroxide, the activities of catalase, ascorbate peroxidase and Guaicol peroxidase in *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott rhizome and root during growth. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, *12*(5), 1–15.
86. Darakeh, S. A. S. S., Weisany, W., Diyanat, M., & Ebrahimi, R. (2021). Bio-organic fertilizers induce biochemical changes and affect seed oil fatty acids composition in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Industrial Crops & Products*, *164*(2021), 113383.
87. Shahriari Graee, M. (2014). Study of agronomic traits and relationships between seed yield and its components in some family of flaxseed. M.Sc Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan. Iran.
88. Sunil, C., Kumar, V., & Van Staden, J. (2019). In vitro alpha-glucosidas inhibitory, total phenolic composition, antiradical and antioxidant potential of Heteromorpha arborescens (spreng). Cham. & Schltdl. Leaf and bark extracts. *South African Journal of Botany*, *124*, 380-386.

89. Mohamadzadeh, Z., Cheniany, M., & Samiei, L. (2021). Effect of methyl jasmonate, IAA and BAP on callogenesis potential, content of some phenolic compounds and antioxidant capacity of Teucrium polium L. *Journal of Plant Process and Function*, *10*(25), 267-284.
90. Yaghobifar, Sh., Rabiei, V., Razavi, F., Javadi, D., & Hassani, A. (2020). Investigation of phytochemical compounds and antioxidant capacity of 11 cultivars and genotypes of hazelnut fruit in Rudsar Eshkevarat region. *JFST*, *103*(17), 151-165.