

مقاله علمی-پژوهشی

اثر فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر ترکیبات فنلی، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید، میزان پرولین، درصد و عملکرد اسانس گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa*)

زینب صفایی^۱ - مجید عزیزی^{۲*} - حسین آروبی^۳ - غلامحسین داوری نژاد^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۵

چکیده

به منظور ارزیابی اثر فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر خصوصیات بیوشیمیایی سیاهدانه، تحقیقی در سال زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد آزمایشی بصورت کرت‌های خرد شده با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. در کرت‌های اصلی فواصل آبیاری (۸ و ۱۶ روز) و در کرت‌های فرعی ترکیبات ضد تعرق کیتوزان (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰ درصد)، موسیلاژ اسفرزه (۱/۵، ۱، ۰/۵، ۰ درصد) و صمغ عربی (۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰ درصد) با سه تکرار قرار گرفتند. صفات مورد اندازه‌گیری عبارت بودند از: ترکیبات فنولی، پرولین، کلروفیل، کاروتنوئید، درصد و عملکرد اسانس. نتایج به دست آمده نشان داد اثر آبیاری و مواد ضد تعرق بر صفات مورد اندازه‌گیری معنی‌دار بود. میزان ترکیبات فنولی، پرولین، کلروفیل و کاروتنوئید در فاصله آبیاری ۱۶ روز افزایش یافت، که این افزایش خود نوعی مکانیسم مقاومت به شرایط خشکی است. ترکیبات ضد تعرق محتوی کلروفیل، کاروتنوئید، ترکیبات فنلی، پرولین را نسبت به شاهد کاهش دادند. افزایش فواصل آبیاری درصد و عملکرد اسانس را کاهش داد. ترکیبات ضد تعرق اثر معنی‌داری بر میزان مواد موثره گیاه داشت. در بین تیمارهای مورد مطالعه دور آبیاری ۸ روز و تیمار کیتوزان ۱ درصد بیشترین درصد اسانس (۰/۲۳ درصد) و عملکرد اسانس (۱۲/۹۱ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد. دور آبیاری ۸ روز و ترکیب کیتوزان در غلظت ۱ درصد تاثیر معنی‌داری در کلیه صفات مورد بررسی نسبت به نمونه شاهد داشتند. با توجه به اثر بخشی ترکیبات ضد تعرق این ترکیبات طبیعی می‌توانند جایگزین مناسبی برای ترکیبات شیمیایی باشند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات ضد تعرق، خصوصیات بیوشیمیایی، سیاهدانه، فواصل آبیاری

مقدمه

تیموکینون مشخص شده است. تیموکینون و روغن سیاهدانه به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث پیشگیری از افزایش همولیسیتین ناشی از متیونین شده که این امر خود منجر به کاهش بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود. روغن سیاهدانه و تیموکیتون از طریق غیرآنزیمی، پراکسیداسیون چربیها را در لیپوزوم مهار می‌کنند. اثر آنتی‌اکسیدانی روغن سیاهدانه ۴-۵ برابر اسانس آن است (۱۱ و ۱۴). تقریباً تمام فعالیت‌های متابولیکی سلول‌های گیاهی از جمله ساخت مواد مؤثره در گیاهان دارویی بستگی به آب دارد (۳۱). کمبود آب قابل جذب در گیاه، منجر به بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله: کاهش آماس و رشد سلولی و در نتیجه کاهش سطح برگ، کاهش ارتفاع گیاه، بسته شدن روزنه‌ها و محدودیت فتوسنتز افزایش ترکیبات محلول جهت تنظیم فشار اسمزی و کاهش جذب مواد غذایی و در نهایت کاهش تولید گیاه می‌شود و این واکنش‌ها بسته به مرحله رشدی گیاه، شدت و طول مدت تنش اثرات متفاوتی ایجاد می‌کنند (۴ و ۳۵). بسته شدن روزنه‌ها در گیاهان اولین نشانه دفاعی

سیاهدانه گیاهی است دولپه، علفی و یکساله با نام علمی *Nigella sativa* متعلق به خانواده آلاله (Ranunculaceae) می‌باشد. و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده با سابقه تاریخی و مذهبی است. پراکندگی جهانی این گیاه در نواحی شمال آفریقا، جنوب اروپا، مناطق مدیترانه‌ای تا هندوستان، غرب و جنوب شرقی آسیا و استرالیا می‌باشد (۱۱). تاثیرات مصرف این گیاه در انسان شامل شیرآوری، ضد نفخ، مسهل، ضدانگل، ضد صرع، ضد باکتری، ضد تومور، مسکن و کاهش دهنده قند خون می‌باشد (۳۴). بذور این گیاه ۱/۵-۰/۵ درصد اسانس می‌باشد. اسانس اصلی‌ترین ماده

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد گرایش فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، استاد، دانشیار و استاد بازنشسته گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: azizi@um.ac.ir

*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i3.48138

گیاهان در مقابل از دست دادن آب می‌باشد. بسته شدن روزنه‌ها نسبت به سایر نشانه‌های خشکی از قبیل تغییرات در رشد ریشه‌ها، سطح برگ، ساختار کلروپلاست و رنگدانه‌های پروتئینی سریع‌تر اتفاق می‌افتد (۱۰). با کاهش میزان تلفات آب از طریق تبخیر و تعرق می‌توان علاوه بر کاهش مصرف آب، ضمن حفظ منابع آب موجود و استفاده بهینه از آنها، از افزایش شوری خاک در بخش‌های وسیعی از کشور نیز تا حدی جلوگیری کرد. در این بین کاربرد مواد ضد تعرق یک ابزار نوید بخش برای تنظیم تعرق در حفظ آب گیاه در حد مطلوب است که استراتژی‌هایی مانند استفاده از مواد ضد تعرق، پتانسیل تنظیم تعرق را دارد (۲ و ۱۰). ماده ضد تعرق از طریق ساز و کارهایی از قبیل بستن روزنه‌ها، انعکاس بیشتر نور خورشید و کاهش رشد اندامهای هوایی، در افزایش مقاومت گیاه به شرایط کمبود آب موثر می‌باشند (۱۶). کیتوزان یک پلی ساکارید با وزن مولکولی بالاست که به عنوان یکی از اجزای اصلی ساختاری پوشش خارجی سخت پوستان و حشرات می‌باشد و همچنین به صورت تجاری از پوست خرچنگ دریایی و میگو بدست می‌آید. کیتوزان در بسیاری از فرآیندهای زیستی در گیاه، از جمله سنتز مهارکننده‌های پروتئاز و افزایش چوبی شدن دخیل می‌باشد کیتوزان با تحریک بیوسنتز اسید آسزیک بر میزان گشودگی روزنه‌ها و میزان هدر رفتن آب در گیاه نقش دارد. این ترکیب در بیان برخی از ژن‌های مقاومت در گیاه و همچنین در تولید برخی از متابولیت‌های ثانویه نقش دارد (۱۰ و ۱۲). صمغ‌ها و موسیلاژها به موادی اطلاق می‌شوند که قدرت تشکیل ژل را دارند، این مواد در ابتدا از تراوشات درختان و بوته‌ها، عصاره‌های گیاهی، پودر دانه‌ها، بذرها، مواد چسپناک حاصل از فرآیندهای تخمیری و از بسیاری از فرآیندهای طبیعی دیگر به دست آمده‌اند. موسیلاژها ترکیباتی کربوهیدراتی، با ساختار شیمیایی پیچیده، دارای مولکول‌های بزرگ با وزن مولکولی زیاد که در آب حل شده و پس از جذب آب متورم و محلول‌های چسبناکی تشکیل می‌دهند (۱۱). در شرایط تنش خشکی حفظ کلروفیل در برگ گیاه ضروری است و ارقام مقاوم در این شرایط نسبت به ارقام حساس کاهش کمتری در مقدار کلروفیل خود دارند. کلروفیل‌ها رنگدانه‌های رایج موجودات فتوسنتز-کننده هستند. عمل کلروفیل جذب انرژی خورشیدی و انتقال آن برای استفاده در واکنش‌های فتوسنتزی است (۱، ۳۶، ۳۸ و ۳۹). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی مکانیسم‌های دفاعی مختلفی شامل آنزیمی و غیر آنزیمی را به کار می‌برند. سیستم غیر آنزیمی شامل آسکوربات، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و ترکیبات متفرقه (از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و فنول‌ها) می‌باشد (۱۷ و ۱۸). ترکیبات فنلی از نظر شیمیایی گروه بزرگ و متنوعی هستند که از اسیدهای فنلی ساده تا پلیمرهای بسیار بزرگ و پیچیده مانند تانن و لیگنین‌ها را شامل می‌شود (۱۹). برخی از فنل‌ها به عنوان ترکیبات دفاعی در برابر گیاه خواران و عوامل بیماری‌زا عمل می‌کنند. سایر

فنل‌ها در حفاظت مکانیکی، جذب گرده‌افشان‌ها و عوامل پراکنش دهنده میوه، جذب اشعه‌های مضر ماوراء بنفش و افزایش قدرت رقابت گیاه از طریق کاهش رشد گیاهان مجاور نقش دارند و بعضی از این ترکیبات دارای خصوصیات آنتی بیوتیکی نیز هستند (۱، ۱۸ و ۲۴). با تجمع رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش گیاه دچار صدمه شده و برای ادامه حیات خویش ترکیباتی که اغلب جزو متابولیت‌های ثانویه هستند از خود آزاد می‌کنند، این ترکیبات می‌توانند از صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد بکاهند. در گیاهان مختلف به دلیل وجود درجات متفاوتی از مقاومت به خشکی، میزان تجمع ترکیبات فنولی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد متغیر است (۱۸). در مطالعه‌ای اسکوامباک و همکاران (۳۳) افزایش میزان ترکیبات فنولی در گیاه دارویی کتان تحت تنش خشکی را گزارش کردند. غریبی و همکاران (۱۸) افزایش ترکیبات فنولی در گیاه بومادران را تحت شرایط تنش خشکی گزارش کردند. در شرایط تنش برخی از ترکیبات داخلی گیاه به میزان قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. این مواد شامل قندها، اسیدهای آمینه‌ای چون پرولین و اکتونین هستند. تجمع این مواد امکان تبدیل فشار اسمزی را در سلول فراهم می‌آورد که در این شرایط از تجمع یون‌های سمی در سیتوسول که برای پروتئین‌ها و غشاءها مثل سدیم سمی است، جلوگیری به عمل می‌آید (۶، ۱۷ و ۲۸). بررسی روی گیاه سیاهدانه تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که در طول تنش میزان پرولین افزایش پیدا کرد (۱۷). لامباردینی و همکاران (۲۵) گزارش کردند که اثر ترکیب ضدتعرق کاتولین روی غلظت کلروفیل برگ‌های پکان (*Carya illinoensis*) متغیر بود که به اولین زمان تیمار بستگی داشت. یک هفته بعد از اولین تیمار هیچ تفاوتی در غلظت کلروفیل بین برگ‌های تیمار شده و شاهد وجود نداشت. اما پس از گذشت چهار هفته غلظت کلروفیل برگ در گیاهان تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد ۱۱ درصد بالاتر بود. هدف از انجام تحقیق حاضر، امکان بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی سیاهدانه توسط ترکیبات ضد تعرق تحت شرایط تنش خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد بر روی گیاه دارویی سیاهدانه به اجرا درآمد. بذر مورد استفاده از عطاری تهیه شد. این تحقیق با استفاده از آزمایش کرت‌های خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار انجام شد به طوری که در کرت‌های اصلی فواصل آبیاری (۸ و ۱۶ روز) و در کرت‌های فرعی ترکیبات ضد تعرق کیتوزان (۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و صفر درصد)، موسیلاژ اسفرزه (۱/۵، ۱، ۰/۵ و صفر درصد) و صمغ عربی (۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰ درصد) با سه تکرار قرار گرفتند. بذراسفرزه و صمغ عربی از عطاری تهیه شد. ترکیب ضد تعرق

استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۵۰ درصد مخلوط و ۲۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر به محلول فوق اضافه شد. پس از ۳ دقیقه ۱۰۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه و بعد از کمی هم زدن نمونه‌ها یک ساعت در شرایط اتاق نگهداری شدند، سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر انجام گرفت (۱۲). برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گالیک اسید استفاده شد. سنجش پرولین گیاه به کمک روش بیتز و همکاران (۸) صورت گرفت. در این روش ۰/۵ گرم از برگ تازه گیاه با ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده گردید. از مخلوط همگن حاصل پس از صاف کردن، ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر معرف اسید ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس آنها را در حمام آب یخ گذاشته و پس از اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن بدست آمد. با استفاده از تقطیر با بخار آب (جهت تعیین اسانس دانه‌ها) میزان مواد موثره گیاه دارویی سیاهدانه بررسی شد. برداشت دانه‌ها ۱۵ تیرماه صورت گرفت. برای تجزیه واریانس داده‌های آزمایش و رسم نمودارها، از نرم‌افزارهای SAS و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و براساس آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیبات فنولی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر فواصل آبیاری بر ترکیبات فنولی معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با کاهش فواصل آبیاری میزان ترکیبات فنولی کاهش یافت. بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۷۰۹/۷۴ میلی‌گرم) و کمترین (۵۶۰/۵۸ میلی‌گرم) به ترتیب در فواصل آبیاری ۱۶ روز و ۸ روز مشاهده گردید (جدول ۲). اثر ترکیبات ضد تعرق بر ترکیبات فنولی معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنولی به ترتیب در تیمار شاهد و ترکیب کیتوزان ۱ درصد مشاهده گردید. همچنین بین سطوح مختلف ترکیبات ضد تعرق اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۲). شواهد زیادی نشان می‌دهد که در شرایط تنشی تولید برخی از این ترکیبات تا چندین برابر افزایش می‌یابد (۲۵). ترکیب‌های فنولی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که بسیاری از ترکیب‌های حلقوی مثل ترکیب‌های فنولی را شامل می‌شوند. این ترکیب‌ها دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱). مطابق نتایج بسیاری از محققان فنل‌هانی از جمله متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که مسیر

کیتوزان از شرکت سیگما آلدیج تهیه شد و گرم ماده مورد نیاز را برای هر بار محلولپاشی نمودن در محلول ۱ درصد اسید استیک حل نموده و به درصد مورد نیاز رسانیده شد. به منظور تهیه موسیلاژ از بذر گیاه مورد نظر، ۲۰۰ گرم بذر گیاه اسفرزه را با ۱۰ برابر آب مقطر به حجم رسانده و آن را بر روی دستگاه لرزاننده قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت موسیلاژ به طور کامل در جدار خارجی بذور رسوب نموده و با مالش شدید بذرها و گذراندن آنها از پارچه ملامل موسیلاژ از بذر جدا شد. به منظور تعیین درصد ماده خشک موسیلاژ، ۳ نمونه از موسیلاژ به حجم ۱ میلی‌لیتر را جدا نموده و در شیشه ساعت توزین شده قرار دادیم. سپس به آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها آنها را وزن نموده و درصد ماده خشک موسیلاژ استخراج شده تعیین شد. به منظور تهیه غلظت‌های صمغ عربی ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ گرم صمغ را در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه لرزاننده قرار گرفت و سپس به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. طول هر کرت فرعی ۱/۵ متر و عرض آن ۱ متر و فاصله بین کرت‌های فرعی ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. همچنین در یک بلوک فاصله کرت‌های اصلی ۱ متر و فاصله بین دو بلوک ۲ متر در نظر گرفته شد تا رطوبت کرت‌های مجاور روی هم اثری نداشته باشد. تاریخ کاشت ۲۸ فروردین ماه بود و کاشت به صورت دستی در شیارهایی با عمق ۰/۵ سانتی‌متر انجام گرفت. عملیات تنک کردن در مرحله چهار و هشت برگی انجام شد. جهت یکنواختی در سبز شدن بذور، پس از کاشت آبیاری متوالی صورت گرفت و اعمال تیمار آبیاری پس از استقرار کامل گیاهچه در مرحله شش برگی آغاز شد و تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی ادامه یافت. آبیاری در کرت‌ها با یک حجم مشخص آب انجام شد. ابتدا یک کرت را به صورت آزمایشی با یک مقدار مشخص آب، آبیاری نموده بطوری‌که پشته‌های کرت کاملاً خیس شد. سپس حجم آب مصرفی کرت را تعیین نموده (۴۰ لیتر که این حجم آب مصرفی در حد میانگین نیاز آبی گیاه در نظر گرفته شد) و آبیاری در فواصل ذکر شده (۸ روز و ۱۶ روز) بر اساس آن انجام شد. ترکیبات ضد تعرق همزمان با اعمال تنش خشکی تا مرحله گلدهی، هفته‌ای یکبار در هنگام غروب آفتاب محلولپاشی شد. در مرحله ده برگی گیاه میزان کلروفیل و کاروتنوئید اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، روش در و همکاران (۱۳) مورد استفاده قرار گرفت. در ابتدا یک گرم نمونه برگ تازه را در هاون چینی کوبیده و سپس در ۱۰ میلی‌لیتر حلال استون حل شد. عصاره بدست آمده را به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس به دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Bio Quest, CE2502, UK منتقل و میزان جذب بدست آمده در طول موج‌های ۶۶۲ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید قرائت شد. جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی از روش گئو و همکاران (۱۵)

بیوستنزی آنها تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد و در مراحل نموی و شرایط محیطی دارای نوسان است (۱۸). افزایش سنتز این ترکیب‌ها در اثر محرک‌های متعدد محیطی نظیر حملات میکروبی، پرتوهای فرابنفش و تنش‌های فیزیکی و شیمیایی محیطی گزارش شده است (۱۶ و ۳۷). بتایب ربی و همکاران (۷) در مطالعه‌ای اثر تنش خشکی را بر ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذور گیاه زیره سبز مطالعه و افزایش قابل توجهی را در کل ترکیبات فنولیک با شدت بخشیدن میزان تنش مشاهده نمودند. بطوری‌که میزان ترکیبات فنلی در گیاهان تحت تنش نسبت به شاهد ۱۵/۲۸ درصد افزایش یافت.

محتوای کلروفیل

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر فواصل آبیاری بر محتوای کلروفیل کل معنی‌دار شد (جدول ۱). بالاترین میزان کلروفیل کل (۶/۰۳ میلی‌گرم/گرم) مربوط به فواصل آبیاری ۱۶ روز و کمترین میزان (۵/۰۹ میلی‌گرم/گرم) در تیمار فواصل آبیاری ۸ روز مشاهده گردید (جدول ۲). با انجام مقایسات میانگین بین ترکیبات ضد تعرق، اختلاف معنی‌داری در محتوای کلروفیل کل، بین سطوح مختلف این ترکیبات مشاهده شد. بیشترین میزان مربوط به تیمار شاهد (۶/۷۲ میلی‌گرم/گرم) و کمترین میزان مربوط به سطح ۰/۵ درصد کیتوزان (۵/۳۲ میلی‌گرم/گرم) بود (جدول ۲). کاهش غلظت کلروفیل در شرایط تنش خشکی به اثر فعالیت آنزیم کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیبات فنولی و در نهایت تجزیه کلروفیل نسبت داده‌اند (۲۵). ایریتی و همکاران (۱۶) در تحقیقی که بر روی ترکیبات ضد تعرق انجام دادند گزارش نمودند که ترکیباتی که فعالیتی مشابه هورمون آبسزیک اسید دارند و یا موجب افزایش غلظت این هورمون در گیاه به واسطه افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز این هورمون در گیاه می‌شوند، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم DNase و اثر این آنزیم در فروپاشی پروتئینی، میزان پروتئین‌های سلول و همچنین میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. ترکیب کیتوزان به دلیل اثر ضد تعرق‌اش به بیان ژن‌های دخیل در سنتز هورمون آبسزیک اسید و به طبع آن افزایش فعالیت آنزیم DNase نسبت به نمونه شاهد میزان کلروفیل را کاهش داد (۱۰ و ۱۲). در مورد ترکیبات موسیلاژ و صمغ به سبب عدم مشخص بودن دقیق مکانیزم عمل این ترکیبات، نمی‌توان علت این کاهش را مشخص نمود ولی می‌توان آن را به کاهش فتوسنتزی به سبب کاهش تبادلات گازی در گیاهان تیمار شده مربوط دانست (۲۶ و ۲۷).

محتوای کاروتنوئید

اندازه‌گیری‌های انجام شده بر روی محتوای کاروتنوئیدی گیاهان

نیز تقریباً نتایج مشابهی با میزان کلروفیل گیاهان نشان داد. با افزایش سطح تنش محتوای کاروتنوئید اندازه‌گیری شده به صورت معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۱). بیشترین و کمترین میزان محتوای کاروتنوئید به ترتیب در فواصل آبیاری ۱۶ روز (۰/۸۶ میلی‌گرم/گرم) و فواصل آبیاری ۸ روز (۰/۷۶ میلی‌گرم/گرم) مشاهده شد (جدول ۲). با انجام مقایسات میانگین بین ترکیبات ضد تعرق، اختلاف معنی‌داری در محتوای کاروتنوئید، بین سطوح مختلف این ترکیبات مشاهده شد. بیشترین میزان مربوط به تیمار صمغ عربی (۰/۷۵ + ۰/۸۴ میلی‌گرم/گرم) و کمترین میزان مربوط به سطح ۱/۵ درصد موسیلاژ (۰/۷ میلی‌گرم/گرم) بود (جدول ۲). کاروتنوئیدها از مشخصات ایزوپروپنوئیدی هستند که یکی از مهم‌ترین وظایف آنها فعالیت ضد اکسیداسیونی و دفع رادیکال‌های آزاد اکسیژن حاصل از تنش خشکی در گیاه است. از مهم‌ترین مشتقات کاروتنوئیدها می‌توان به کاروتن‌ها اشاره نمود که یک بخش کلیدی سیستم ضد اکسیداسیونی گیاه را تشکیل می‌دهند. بتا کاروتن‌ها بطور اختصاصی به هسته مرکزی سیستم‌های نوری ۱ و ۲ اتصال دارند و کلروپلاست را از اثرات زیان‌آور و رادیکال‌های آزاد اکسیژن ممانعت می‌نمایند (۱۷، ۳۳ و ۳۷). به همین دلیل احتمال داده می‌شود که گیاهان قرار گرفته در شرایط تنش رطوبتی به منظور کاهش صدمات ناشی از افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بافت‌ها میزان کاروتنوئید را در بافت‌های فتوسنتزی خود بالا می‌برند (۲۲ و ۲۴).

میزان پرولین

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر فواصل آبیاری بر میزان پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار شد. جدول تجزیه واریانس نشان داد که فواصل آبیاری اثر معنی‌داری بر میزان پرولین داشته است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش فواصل آبیاری میزان پرولین افزایش یافت بطوری‌که بیشترین میزان پرولین (۱۲/۷۲ میکرومول) در فواصل آبیاری ۱۶ روز و کمترین میزان (۷/۲ میکرومول) در فواصل آبیاری ۸ روز مشاهده گردید (جدول ۲). اثر ترکیبات ضد تعرق بر پرولین معنی‌دار شد (جدول ۱). بین سطوح مختلف ترکیبات ضد تعرق نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). اثر متقابل فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر میزان پرولین معنی‌دار شد (جدول ۱). بطوری‌که بالاترین میزان پرولین در تیمار شاهد به همراه فواصل آبیاری ۱۶ روز مشاهده شد (شکل ۱). تولید زیاد پرولین با افزایش فشار اسمزی داخل سلول از تأثیر اختلالات تنشی در فرایند طبیعی سلولی ممانعت به عمل می‌آورد. این افزایش سطح پرولین، حتی پس از حذف شرایط تنش تا مدت یک ماه باقی می‌ماند. اسمولالیت‌ها همچنین باعث پایداری آنزیم‌ها در حضور یون‌ها، تنش آبی و نیز تأثیر ترکیب‌های شیمیایی داناتور کننده می‌شوند (۱۷ و ۳۳). قربانلی و همکاران (۱۷) گزارش

تحت تنش خشکی می‌تواند تا حدی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه را برای گیاه فراهم آورد، اما اتکای گیاهان به این ترکیب‌ها آلی برای تنظیم اسمزی هزینه بر بوده و منجر به کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۶ و ۲۱).

کردند که میزان پرولین در برگ‌های گیاه سیاهدانه تحت شرایط تنش خشکی شدید افزایش یافت. همچنین افزایش پرولین را در سلول‌های گیاهی مربوط به مکانیسم‌های مقاومت به خشکی دانسته‌اند. سطوح بالای پرولین، گیاه را قادر می‌سازد تا پتانسیل آبی خود را پایین نگهدارد. تجمع ترکیب‌هایی مانند پرولین و اسیدهای آمینه در بافت گیاه

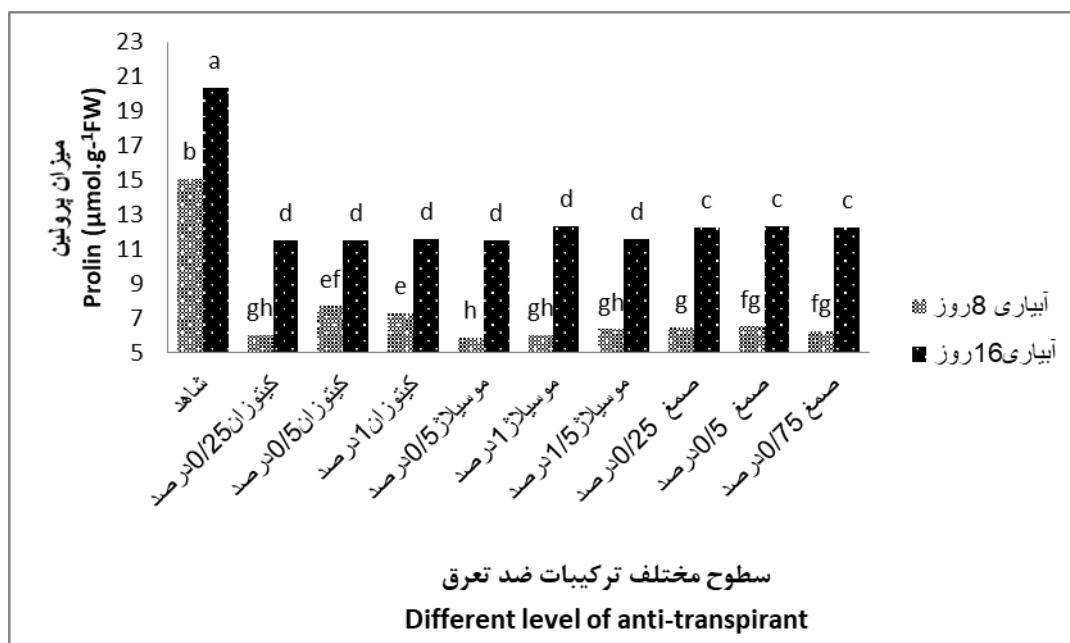
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر صفات مورد بررسی سیاهدانه

Table 1- ANOVA for the effect of irrigation intervals and anti-transpiration compounds on some traits of *Nigella sativa*

منابع تغییر S.V.B	درجه آزادی df	کلروفیل Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoids	پرولین Proline	ترکیبات فنلی Phenolic compounds	درصد اسانس Essential oil percentage	عملکرد اسانس Essential oil yield
تکرار Replication	2	0.099 ^{ns}	0.00004 ^{ns}	0.75 ^{ns}	1346.57 ^{**}	0.0005 ^{ns}	0.29 ^{ns}
دور آبیاری Irrigation interval	1	7.89 ^{**}	0.14 ^{**}	442.65 ^{**}	333715.66 ^{**}	0.008 ^{**}	226.16 ^{**}
خطای اصلی Error _a	2	0.15	0.0001	2.23	2348.02	0.00016	0.38
ترکیبات ضد تعرق Anti-transpirant	9	0.55 ^{**}	0.0027 ^{**}	44.77 ^{**}	12272.15 ^{**}	0.003 ^{**}	13.96 ^{**}
دور آبیاری × ترکیبات ضد تعرق Irrigation × Anti-transpirant Interaction	9	0.1 ^{ns}	0.69 ^{ns}	0.28 ^{ns}	1751.4 ^{ns}	0.0015 [*]	8.35 ^{**}
خطای فرعی Error _b	36	0.1	0.0005	10	1277.95	0.0005	12.84

* و **: به ترتیب نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns}, * and ** indicate non-significant and significant at the 5% and 1% of probability levels, respectively.



شکل ۱- اثر متقابل فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر میزان پرولین گیاه سیاهدانه

Figure 1- Interaction effect of irrigation intervals × anti-transpirant on proline content of *Nigella sativa* plant

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر صفات مورد بررسی سیاهدانه

Table 2- Mean comparisons of the effects of irrigation intervals and anti-transpirant on some traits of *Nigella sativa*

تیمارها Treatments	ترکیبات فنلی Phenolic Compounds (mg/100g DW)	کلروفیل Chlorophyll (mg .g ⁻¹)	کارتنوئید Carotenoids (mg .g ⁻¹)	پرولین Proline (μmolg ⁻¹ fw)	درصد اسانس Essential oil % (v/w)	عملکرد اسانس Essential oil yield (kg/ha)
فواصل آبیاری						
Irrigation interval						
۸ روز 8 days	560.58b	5.9b	0.76b	7.2b	0.16a	10.01a
۱۶ روز 16 days	709.74a	6.03a	0.81a	12.72a	0.13b	6.13b
ترکیبات ضد تعرق						
anti-transpirant						
شاهد						
Control	742.81a	5.33ef	0.74d	17.74a	0.2a	9.4b
کیتوزان						
Chitosan 0.25%	577.5d	6.44b	0.8b	8.77d	0.14cd	8.12c
Chitosan 0.5%	600.16cd	5.32f	0.72de	9.27bc	0.14cd	9.26b
Chitosan 1%	599.48cd	6.2c	0.81b	9.44b	0.18ab	10.72a
موسیلاژ اسفرزه						
Psyllium mucilage 0.5 %	651.13b	5.56e	0.72de	8.69d	0.12d	6.59d
Psyllium mucilage 1%	626.8c	6.21c	0.81b	9.16bc	0.14cd	7.12d
Psyllium mucilage 1.5 %	659.88b	5.47ef	0.7e	8.96cd	0.16bc	8.89e
صمغ عربی						
Arabic gum 0.25%	26.8b	6.23bc	0.77c	9.33b	0.15c	8.02c
Arabic gum 0.5%	632.08bc	5.97d	0.74d	9.41b	0.12d	5.89e
Arabic gum 0.75%	633.55bc	6.72a	0.84a	9.25bc	0.14cd	6.64d

Similar letters in each column indicate no significant difference at $p \leq 0.05$ based on LSD test.

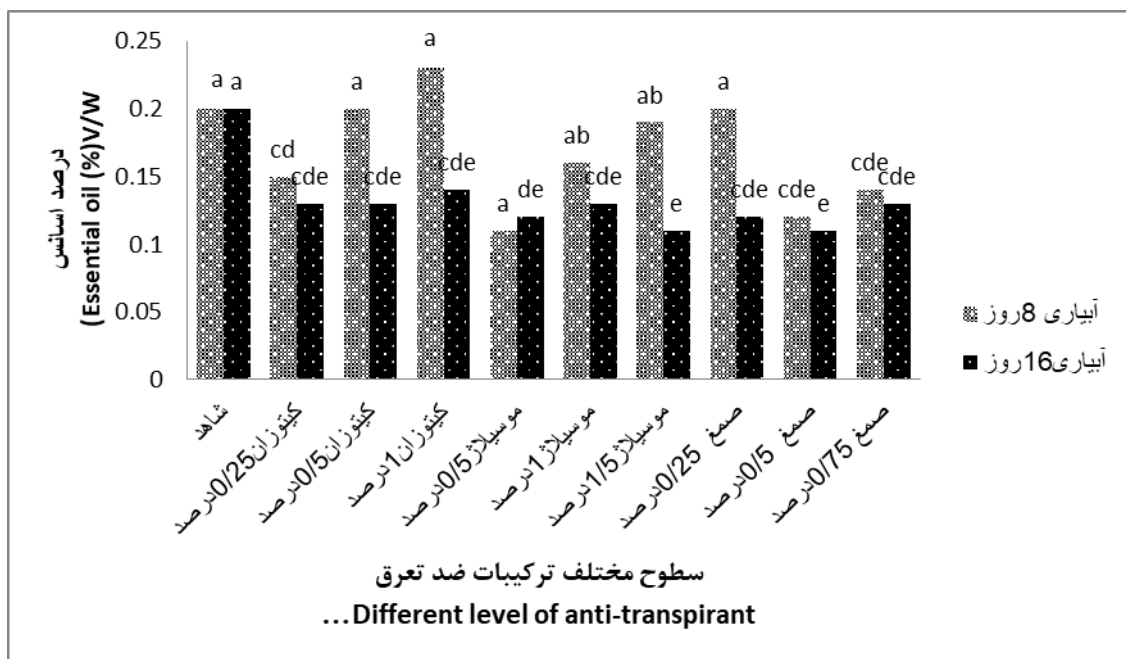
درصد و عملکرد اسانس

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که درصد و عملکرد اسانس تحت تأثیر فواصل آبیاری قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین درصد اسانس در فواصل آبیاری ۸ روز (۰/۱۶ درصد) و کمترین میزان آن در تیمار فواصل آبیاری ۱۶ روز (۰/۱۳ درصد) مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان عملکرد اسانس در فواصل آبیاری ۸ روز با (۱۰/۰۱ کیلوگرم در هکتار) و کمترین میزان در تیمار فواصل آبیاری ۱۶ روز با (۶/۱۳ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد (جدول ۲). اثر ترکیبات ضد تعرق بر درصد و عملکرد اسانس معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که تیمار کیتوزان ۱ درصد دارای بیشترین درصد اسانس

(۰/۱۸ درصد) و تیمار ۰/۵ درصد موسیلاژ کمترین درصد اسانس (۰/۱۲ درصد) را دارا بودند. اثر متقابل فواصل آبیاری و ترکیبات ضد تعرق بر درصد و عملکرد اسانس معنی دار شد، بطوری که تیمار کیتوزان ۱ درصد و فواصل آبیاری ۸ روز دارای بالاترین و تیمار ۰/۲۵ درصد صمغ عربی و ۰/۵ درصد موسیلاژ و فواصل آبیاری ۱۶ روز دارای کمترین درصد و عملکرد اسانس بودند (شکل های ۲ و ۳). میزان اسانس تولیدی در گیاه به عوامل مختلفی از جمله عوامل محیطی وابسته است (۳۱). آب نیز یکی از مهمترین عوامل محیطی مؤثر در تولید محصولات مختلف می باشد، بطوری که کمبود آب در جریان تولید گیاهان می تواند صدمات سنگینی بر رشد و نمو و

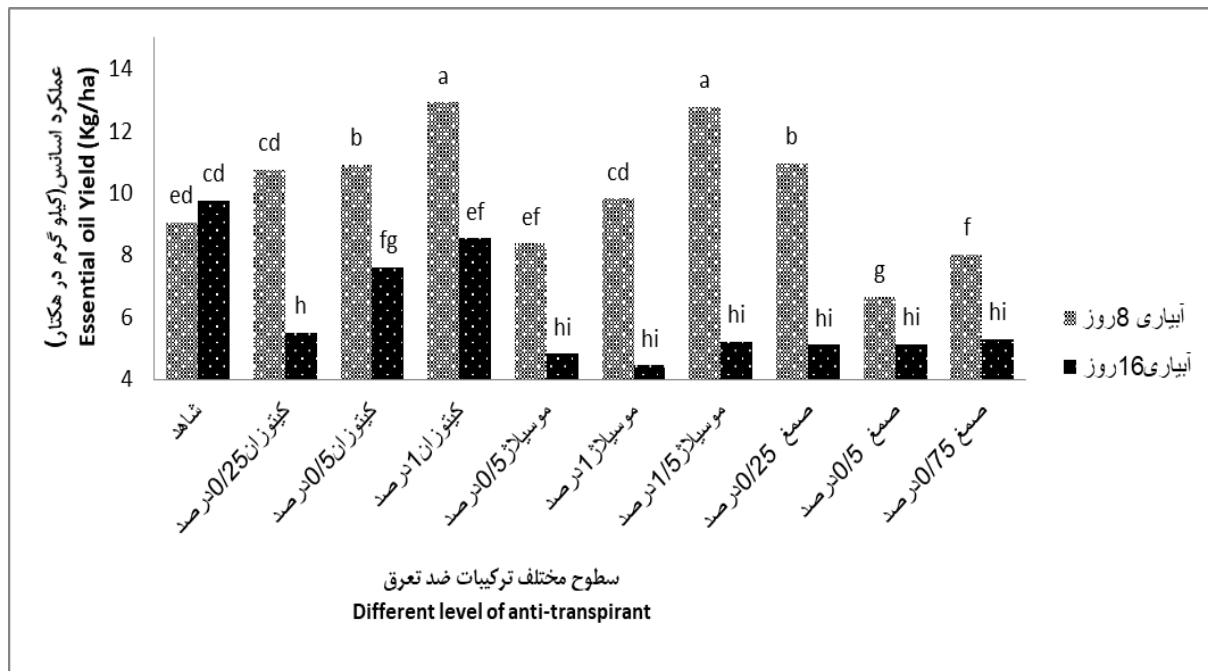
آن سطح فتوسنتزی گیاه کاهش و نهایتاً منجر به کاهش تولید ماده خشک و عملکرد گیاه می‌گردد. در این آزمایش نیز کاهش درصد اسانس در تیمار تنش شدید را به رشد ضعیف رویشی گیاه و کاهش گلدهی گیاه و نهایتاً "کاهش تولید دانه نسبت داد. کاهش عملکرد اسانس در نتیجه کاهش رطوبت خاک ممکن است ناشی از اثر زیانبار تنش آبی بر رشد و پیکر رویشی گیاه باشد. چون عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و عملکرد گیاه می‌باشد. افزایش عملکرد اسانس در تیمار کیتوزان را می‌توان به افزایش عملکرد دانه در این غلظت نسبت سایر غلظت‌های ترکیبات ضد تعرق دانست. مواد ضد تعرق از طریق بستن روزنه‌ها و افزایش مقاومت به انتشار بخار آب از برگ‌ها موجب افزایش پتانسیل آب در سلول‌های برگ و نهایتاً "رشد اندام‌ها می‌شوند. ترکیبات ضد تعرق به سبب جلوگیری از خروج آب از بافت‌ها و بدین سبب جلوگیری از فعالیت برخی از عوامل تخریب‌کنندگی فتوسنتز، میزان تولید ماده خشک را افزایش می‌دهند. با افزایش میزان رشد رویشی گلدهی گیاه افزایش و نهایتاً تولید دانه و میزان ماده موثره افزایش می‌یابد (۴، ۱۰، ۲۱، ۲۳، ۲۹، ۳۲ و ۳۵).

همچنین مواد مؤثره گیاهان دارویی وارد نماید (۱۱ و ۳۱). آب در بیوستنز اسانس مؤثر بوده و می‌تواند در کیفیت و کمیت سیاهدانه تأثیرگذار باشد. اولین نشانه کمبود آب کاهش فشار تورژسانس که منجر به کاهش رشد و نمو سلول‌ها مخصوصاً در ساقه و برگ می‌شود. رشد سلول مهم‌ترین فرآیند است که با تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با کاهش رشد سلول اندازه اندام محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم آبی گیاهان را می‌توان اندازه کوچکتر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد. رشد گیاه نه تنها بستگی به تجمع مواد خام از طریق فتوسنتز و جذب عناصر دارد، بلکه به حفظ پتانسیل زیاد آب گیاه جهت طویل شدن سلول‌ها بستگی دارد و در شرایط تنش خشکی با کاهش تعداد و کوچکتر کردن برگ، سطح فتوسنتز کننده خود را کاهش می‌دهد و متعاقب کاهش سطح برگ، ظرفیت فتوسنتزی کاهش می‌یابد و این رویداد باعث کاهش سطح برگ می‌شود. کاهش رشد سلول‌ها در اثر کم آبی در درجه اول باعث کاهش رشد برگ‌ها می‌شود که با کاهش سطح برگ گیاه آب کمتری از دست می‌دهد. بنابراین محدود شدن سطح برگ را می‌توان به عنوان یکی از ساز و کارهای دفاعی گیاه در برابر خشکی در نظر گرفت با کاهش سطح برگ، سطح جذب نور خورشید و به دنبال



شکل ۲- اثر متقابل فواصل آبیاری × ترکیبات ضد تعرق بر درصد اسانس سیاهدانه

Figure 2- Interaction effect of irrigation intervals × anti-transpirant on essential oil of *Nigella sativa*



شکل ۳- اثر متقابل فواصل آبیاری × ترکیبات ضد تعرق بر عملکرد اسانس سیاهدانه

Figure 3- Interaction effect of irrigation intervals × anti-transpirant on essential oil yield of *Nigella sativa*

۱ درصد تاثیر معنی داری در کلیه صفات مورد بررسی نسبت به نمونه شاهد داشتند. تیمار صمغ عربی ۰/۲۵ درصد تاثیر معنی داری بر صفات مورد بررسی نداشت. با توجه به ماهیت طبیعی و زیست تجزیه پذیر بودن، ایمن و ارزان بودن این ترکیبات ضد تعرق در مقایسه با سایر ترکیبات ضد تعرق شیمیایی، این ترکیبات می توانند جایگزین مناسبی برای این ترکیبات شیمیایی باشند. شناخت و مهارت در روابط آبی گیاه و تحمل به تنش خشکی اصلی ترین برنامه در کشاورزی و توانایی مقاومت در برابر این گونه تنش ها دارای اهمیت اقتصادی فراوانی است.

نتیجه گیری

در این پژوهش مشاهده شد میزان ترکیبات فنولی، پرولین، کلروفیل و کاروتنوئید در فاصله آبیاری ۱۶ روز افزایش یافت، که این افزایش خود نوعی مکانیسم مقاومت به شرایط خشکی است همچنین ترکیبات ضد تعرق منجر به تغییرات معنی داری در کلیه صفات مورد بررسی نسبت به نمونه شاهد شدند. افزایش فواصل آبیاری درصد و عملکرد اسانس را کاهش داد. در بین تیمارهای مورد مطالعه دور آبیاری ۸ روز و تیمار کیتوزان ۱ درصد میزان اسانس و عملکرد اسانس را افزایش دادند. دور آبیاری ۸ روز و ترکیب کیتوزان در غلظت

منابع

- 1-André C.M., Schafleitner R., Legay S., Lefèvre I., Aliaga C.A.A., Nomberto G., Hoffmann L., Hausman J.F., Larondelle Y., and Evers D. 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry* 70(9): 1107-1116.
- 2-Bagheri H., Andalibi B., and Azimimoghaddam M.R. 2010. Effect of atrazine anti transpiration application on improving physiological traits, yield and yield components of safflower under rainfed condition. *Journal of Crops Improvement* 14(2): 1-16. (In Persian with English abstract)
- 3-Bannayan M., Nadjafi F., Azizi M., Tabrizi L., and Rastgoo M. 2008. Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products* 27: 11-16.
- 4-Babaei K., Amini Dehaghi M., Modares Sanav S.A.M., and Jabbari R. 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Medicinal Plants Research* 26: 239-251. (In Persian with English abstract)
- 5-Bettaieb Rebey I., Jabri-Karoui I., Hamrouni-Sellami I., Bourgo B., Limam F., Marzouk B. 2012. Effect drought on the biochemical composition an antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Industrial Crops and Products* 36: 238-245.
- 6-Bajji M., Lutts S., and Kinet J.M. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a

- function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum*) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science* 160: 669-681.
- 7-Babita M., Maheswari M., Rao L.M., Shanker A. K., and Rao D.G. 2010. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. *Crop Sciences* 69: 243–249.
- 8-Bates L. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*. 39:205-207.
- 9-Bassim Atta A. 2003. Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry* 83: 63-68.
- 10-Bittelli M., Flury M., Campbell G.S., Nichols E.J. 2001. Reduction of transpiration through foliar Application of chitosan. *Agricultural and Forest Meteorology* 107: 167–175.
- 11-Davazdahemami S., and Majnoonhossein N. 2008. Cultivation and production of some medicinal and spice plants. Tehran University Press. 300 pages.
- 12-Del Amora F.M., Cuadra-Crespo P., Walkera D. J., Cámarab J.M., and Madridc R. 2010. Effect of foliar application of antitranspirant on photosynthesis and water relations of pepper plants under different. Levels of CO₂ and water stress. *Journal of Plant Physiology* 167: 1232-1238.
- 13-Dere S., Gunes T., and Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll- a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Journal of Botany* 22:13-17.
- 14-El Dakhakhny M., Barakat M., Abd El Halim M., and Aly SM. 2000. Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 299–304.
- 15-Gano X., Bjok L., Trajkovski V., and Uggla M. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 80: 2021-7.
- 16- Ghorbanli M., Bakhshi Gh., and Zakeri A. 2012. Investigation on the effects of water stress on antioxidant compounds of *Linum usitatissimum* L. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 27(4): 647-658. (In Persian with English abstract)
- 17-Ghorbanli M., Bakhshi G.R., Salimi S., and Hedayati M. 2011. Effect of Water deficit and its intraction with ascorbat, catalase and glutathione peroxidase amounts in *Nigella sativa*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 26(4): 466-476. (In Persian with English abstract)
- 18-Gharibi SH., Tabatabai P., and Saeidi GH. 2012. Effect of water deficit on morphological and antioxidant activities in *Achillea tenuifolia*l. *Journal of Herbal Drug* 3(3): 181-190. (In Persian with English abstract)
- 19-Hadrami A., Adam L.R., Hadrami I., and Daayf F. 2010. Chitosan in Plant Protection. Review, *Agricultural and Forest Meteorology* 8: 968-987.
- 20-Iiriti M., Picchi V., Rossoni M., Gomasasca S., Ludwig N., Garganoand M., and Faoro F. 2009. Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. *Environmental and Experimentan Botany* 66: 493-500.
- 21-Khalil S.E., Nahed G., Aziz A.E., and Abou Leil B.H. 2010. Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of (*Ocimum basilicum*) *Journal of American Science* 6: 33-44.
- 22-Koc E., Islek C., and Ustun A.S. 2010. Effect of coldon protein, proline, phenolic compounds andchlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science* 23: 1-6.
- 23-Kazempour S., Tagbakhsh M. 2002. Effect of some antitranspiration on vegetive Characteristics, yield and yield parameters of corn under limited irrigation. *Journal of Agronomy. Crop Science* 32(2): 205-211. (In Persian with English abstract)
- 24-Lila M.A. 2004. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 306-313.
- 25-Lombardini L., Harris M.K., and Glenn D.M. 2005. Effects of particle film application on leaf gas exchange, water relations, nut yield, and insect populations in mature pecan trees. *Horticultural Science* 40: 1376–1380.
- 26-LU C., and Zhang J. 1999. Effect of water stress on photosystem II photochemistry and its thermo stability in wheat plants. *Experimental Botany* 50: 1199-1206.
- 27-Ludwig N., Cabrini, R., Faoro F., Gargano M., Gomasasca S., Iriti M., Picchi V., and Soave C. 2010. Reduction of evaporative flux in bean leaves due to chitosan treatment assessed by infrared thermograph. *Infrared Physics & Technology* 53: 65-70.
- 28-Mamnoei E., and Sharifi R. 2010. Study the effects of water deficit ochlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation witcanopy temperature and yield. *Journal of Plant Biology* 5: 51-62. (In Persian with English abstract)
- 29-Nabipour M., Meskarbashee M., and Yosefpour H. 2007. The Effect of water deficit on yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorrius* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10: 421-426.
- 30-Ozkur O., Ozdemir F., Bor M., and Turkan I. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environmental and Experimental Botany* 66(3): 487-492.
- 31-Omidbaigi R. 2009. Production and processing of medicinal plant (3 rd edition. Vol. 1). Razavi Ghods Astan Publication. 347 pp.
- 32-Petropoulos S.A., Dimitra D., Polissiou M.G., and Passam H.C. 2008. The effect of water deficit stress on the

- growth, yield and composition of essential oils of parsley. Science. Horticulture 115: 393–397.
- 33-Schwambach J., Ruedell C.M., de Almeida M.R., Penchel R.M., de Araújo E.F., and Fett-Neto A.G. 2008. Adventitious rooting of *Eucalyptus glubulus*×*maidennii* mini-cutting derived from mini-stumps grown in sand bed and intermittent flooding trays: a comparative study. New Forests 36(3): 261-271.
- 34-Shaalan M.N. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. Egyptian Journal of Agricultural Research 83: 811-828.
- 35-Safikhani F., sharifabadi H., Syadat A., Ashorabadi A., Syednedjad M., and Abbaszadeh B. 2007. The effect of drought on yield and morphologic characteristics *Deracoce phalummoldvica* L. Journal of Medicinal Plants Research 23(2):183-194. (In Persian with English abstract)
- 36-Salehi M., Nassiri Mahallati M., and Koocheki A. 2003. Leaf nitrogen and chlorophyll as indicators for salt stress.1-10. (In Persian with English abstract)
- 37-Winkel- Shirly B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects on stress. Current Opinion in Plant Biology 5: 218-223.
- 38-Yadava U. 1989. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. Horticulture Science 21: 1449-1450.
- 39-Yordanov I., Velikova V., and Tsoner T. 1999. Influence of drought, high temperature and carbamide cytokinin 4-PU-30 on photosynthetic activity of plants. I. changes in chlorophyll fluorescence quenching. Photosynthetica 37: 447-457.



The Effect of Irrigation Intervals and Anti- transpiration Compounds on Phenolic Compounds, Chlorophyll, Carotenoids, Proline, Essential Oil Percentage and Yield in the *Nigella Sativa*

Z. Safae¹- M. Azizi^{2*}- H. Aroiee³- Gh. Davarinejad⁴

Received: ...-...-2019

Accepted: ...-...-2020

Introduction: Nowadays *Nigella Sativa* plant is considered as a one of the most important kinds of medicine. Almost all the metabolic activities of plant cells, including the construction of active ingredients in medicinal plants, depend on water. Lack of absorbable water by plants can lead to the morphological, physiological and biochemical changes, including decrease of cell swelling and growth and thus reduction of leaf area and plant height, stomatal closure and photosynthesis restriction, increase in the soluble compounds for regulating the osmotic pressure, reduction of nutrient absorption and ultimately reduction of crop production. The use of anti-transpiration compounds is considered as a promising tool for the regulation of transpiration in respect of water conservation at an optimal level, where the strategies such as the use of anti-transpiration compounds have the potential for transpiration regulation. The aim of the present study is to improve the biochemical characteristics of medicinal plant *N. sativa* by anti-transpiration compounds under drought stress conditions.

Materials and Methods: The research was done using a split plot experiment based on a randomized complete block design with three replications. The irrigation intervals (8 and 16 days) in main plots and anti-transpiration compounds of chitosan (0.25, 0.5 and 1 %), *Plantago psyllium* mucilage (0.5, 1 and 1.5 %) and Arabic gum (0.25, 0.5 and 0.75 %) were put in subplots with three replications. The distance between the main plots in each block and distance between the two blocks were also assigned as 100 cm and 200 cm, respectively; so that the moisture content of a plot had no effect on the adjacent plots. Anti-transpiration compounds were sprayed simultaneously with applying drought stress till the flowering stage once a week at sunset. Phenolic compounds, proline, chlorophyll, carotenoids, essential oil were measured.

Results and Discussion: The results showed that there were significant differences between treatments in all studied traits. The best rate of the measured traits was observed at 8-day irrigation interval and chitosan treatment. The results obtained from the study showed that the effect of irrigation intervals and anti-transpiration compounds on the measured traits were significant. The best rate of the measured traits was observed at 8-day irrigation interval and chitosan treatment. The amount of phenolic compounds, proline, chlorophyll and carotenoids increased at 16-day irrigation interval, in which the increase is considered a type of drought tolerance mechanism. Different levels of anti-transpiration compounds decreased the chlorophyll, carotenoids, phenolic compounds, proline, essential oil percentage and yield.

Conclusion: The important processes, including nutrition, photosynthesis, stomatal opening and closure and growth are all influenced by water. Plants are constantly living in tension and develop morphological and physiological changes in the structures and compositions and chemical processes for coping with this tension. In this study, it was observed that the level of phenols, proline, chlorophyll and carotenoids would increase at 16-day irrigation interval, where the increase is considered as a drought tolerance mechanism. The anti-transpiration compounds also led to the significant changes in terms of all the studied traits compared to the control, indicating the effectiveness of these natural compounds. As the above compounds are natural and biodegradable, as well as safer and less expensive than other chemical anti-transpiration compounds, they can serve as a good alternative to the chemical compounds. Cognition and expertise in water relations of plant and drought stress tolerance is considered as the main program in agriculture and the ability to withstand this stress is of great economic importance.

Keywords: Anti-transpiration compounds, Biochemical characteristics, Irrigation intervals, *Nigella sativa*

1, 2, 3 and 4- M.Sc. of Horticulture (Medicinal Plants), Professor, Associate Professor and Professor (Retired), Department of Horticulture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.

(*- Corresponding Author Email: azizi@um.ac.ir)