دانشگاه شاهرود

گروه زراعت و اصلاح نباتات

برهمکنش میکوریزا و امواج آلتراسونیک بر رشد و عملکرد سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*)

شیما کریمی فرد

استاد راهنما:

دکتر منوچهر قلی پور

اساتید مشاور:

دکتر احمد غلامی

حسن آریانی محمدیه

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

آذر ماه ۱۳۹۲

پیوست شماره ۲

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده : کشاورزی

گروه : زراعت-اصلاح نباتات

پایان نامه کارشناسی ارشد خانم شیما کریمی فرد

تحت عنوان: برهمکنش میکوریزا و امواج آلتراسونیک بر رشد و عملکرد سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*)

در تاریخ ۱۳۹۲/۰۹/۱۸ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد مورد ارزیابی و با درجه ..... مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی: دکترمنوچهر قلی پور		نام و نام خانوادگی: دکتر احمد غلامی	
		نام و نام خانوادگی : حسن آریانی محمدی	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی: دکتر حمید عباسدخت		نام و نام خانوادگی: دکترکامبیز جهان بین	
نام و نام خانوادگی: مصطفی حیدری			

تقدیم به پدر و مادرم

که از نگاهشان صلابت

از رفتارشان محبت

و از صبرشان ایستادگی را آموختم

و تقدیم به برادر و خواهر عزیزم که همواره مشوق و پشتیبانم بوده اند.

تشکر و قدردانی

شکر و سپاس خدای را که بزرگترین امید و یاور در لحظه لحظه زندگیست و یادش آرامش بخش قلب هاست.

از استاد راهنمای خود، جناب آقای دکتر منوچهر قلی پور به خاطر راهنمایی ها و مساعدت بی دریغ شان در طی انجام این تحقیق، نهایت تشکر را دارم. همچنین از اساتید محترم دکتر احمد غلامی و مهندس حسن آریانی محمدیه به خاطر مشاوره ها و کمک هایشان، بسیار متشکرم.

و نیز از دوستان عزیزم خانم ها مهندس شیدا عبادی قهرمانی، آمنه یوسفی کیا و آقای مهندس سجاد نجف زاده، و کلیه دوستانی که هر یک به نوعی با همدلی و همکاری یاریم دادند، تشکر می کنم و برایشان بهترین آرزوها را دارم. از خانواده‌ام به خاطر حمایت های معنوی و مادی که در طی انجام این تحقیق و کل زندگی‌ام از من داشته‌اند، تشکر ویژه می نمایم.

شیما کریمی فرد

آذرماه ۱۳۹۲

تعهد نامه

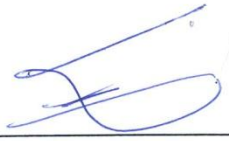
اینجانب **شیما کریمی فرد** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **اگرواکولوژی** دانشکده **کشاورزی** دانشگاه شاهرود نویسنده پایان نامه **برهمکنش میکوریزا و امواج آلتراسونیک بر رشد و عملکرد سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*)** تحت راهنمائی **دکتر منوچهر قلی پور** متعهد می شوم.

تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.

- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه شاهرود » و یا « **Shahrood University** » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ ۱۳۹۲/۹/۱۸

امضای دانشجو



مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

*** متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد .**

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود در سال ۱۳۹۱ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار به اجرا در آمد. فاکتورهای آزمایش شامل قارچ میکوریزا در سه سطح عدم تلقیح (M1)، تلقیح به میزان توصیه شده در بروشور (M2)، تلقیح به میزان دو برابر مقدار توصیه شده در بروشور (M3) و امواج التراسونیک در پنج سطح صفر(F1)، ۳ (F2)، ۵ (F3)، ۷ (F4) و ۹ دقیقه (F5) در معرض تابش امواج با فرکانس ۴۲ کیلو هرتز می‌باشد. طبق نتایج بدست آمده اثر متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر ارتفاع ساقه، تعداد کپسول در بوته، درصد اسانس و روغن دانه معنی دار شد. صفات عملکرد دانه، وزن هزار دانه، کلونیزاسیون ریشه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت تحت تأثیر اثر اصلی میکوریزا معنی دار شدند. گیاهان تلقیح شده با میکوریزا بیشترین افزایش را به خود اختصاص دادند و بین سطوح تلقیح اختلاف معنی داری وجود نداشته است. عملکرد اسانس نیز تحت تأثیر میکوریزا قرار گرفت به طوری که بیشترین عملکرد اسانس در تیمار تلقیح مضاعف میکوریزا بدست آمد. اثر اصلی امواج فراصوت نیز باعث افزایش در عملکرد دانه، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس گردید. به طوری که بیشترین افزایش معنی دار مربوط به تیمار ۵ و ۷ دقیقه امواج فراصوت بود. تعداد دانه در کپسول تحت تأثیر هیچ یک از تیمارها در این آزمایش قرار نگرفت. در این پژوهش مشخص شد که تلقیح میکوریزا و همچنین تیمار ۵ و ۷ دقیقه فراصوت به منظور بهبود رشد و عملکرد سیاه‌دانه مفید می-باشد.

کلمات کلیدی: میکوریزا، التراسونیک، سیاه‌دانه

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

۱. بررسی تأثیر قارچ میکوریزا و امواج فراصوت بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.). دومین همایش ملی طلای سبز، دانشگاه شهید بهشتی تهران.

۲. بررسی تأثیر قارچ میکوریزا و امواج فراصوت بر برخی صفات کمی و کیفی گیاه دارویی سیاه دانه (*Nigella sativa L.*). اولین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، دانشکده شهید مفتح همدان.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱

فصل دوم: مرور منابع ۸

۲-۱- سیاه‌دانه ۹

۲-۱-۱- تاریخچه و مبداء ۹

۲-۱-۲-رده بندی ۱۰

۲-۱-۳- گیاهشناسی ۱۱

۲-۱-۴- موارد مصرف و خواص دارویی و درمانی ۱۲

۲-۱-۵- ترکیبات دانه ۱۵

۲-۱-۵-۱- روغن ۱۵

۲-۱-۵-۲- اسانس ۱۷

۲-۱-۵-۳- پروتئین ۱۷

۲-۱-۶- زراعت سیاه‌دانه ۱۸

۲-۱-۶-۱- کشت و کار ۱۸

۲-۱-۶-۲- خاک و کود شیمیایی ۱۹

۲-۱-۶-۳- نیازهای اکولوژیکی ۱۹

۲-۱-۶-۴- داشت ۲۰

۲-۱-۶-۵- برداشت ۲۱

۲-۲- میکوریزا ۲۲

۲-۲-۱- تاریخچه تکاملی قارچ میکوریزا آرباسکولار ۲۳

۲-۲-۲- نقش همزیستی میکوریزا بر رشد گیاه میزبان ۲۴

۲-۲-۳- نقش همزیستی میکوریزا بر جذب عناصر غذایی ۲۵

۲-۲-۴- نقش همزیستی میکوریزا بر جذب فسفر توسط گیاه میزبان ۲۷
۲-۲-۵- نقش همزیستی میکوریزا در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده ۲۸
۲-۳- فراصوت ۲۹
۲-۳-۱- آزمون فراصوت ۲۹
۲-۳-۲- کاربرد امواج فراصوت در صنایع غذایی ۳۰
۲-۳-۳- کاربردهای امواج فراصوت در کشاورزی ۳۱
۲-۳-۴- ضرورت استفاده از فراصوت در کشاورزی ۳۲
۲-۳-۵- اثرات اصلی امواج فراصوت ۳۲
۲-۳-۶- سابقه و ضرورت انجام تحقیق بر فراصوت ۳۳
۲-۳-۷- اثرات مخرب امواج فراصوت بر روی آنزیم ها در شدت بالای پرتودهی ۳۴
فصل سوم: مواد و روش‌ها ۳۶
۳-۱- مشخصات محل آزمایش ۳۷
۳-۲- شرایط آب و هوایی محل اجرای آزمایش ۳۷
۳-۳- مشخصات خاک مزرعه ۳۸
۳-۴- مشخصات طرح آزمایش ۳۸
۳-۵- مشخصات کرت‌ها ۳۹
۳-۶- آماده سازی زمین و کوددهی ۳۹
۳-۷- پرتودهی بذور سیاه‌دانه ۳۹
۳-۸- کاشت بذر سیاه‌دانه ۴۰
۳-۹- عملیات داشت ۴۰
۳-۹-۱- مبارزه با علف‌های هرز و دفع آفات ۴۰
۳-۹-۲- آبیاری و تنک ۴۱

۳-۱۰- برداشت ۴۱
۳-۱۱- صفات اندازه گیری شده و روش اندازه گیری ۴۱
۳-۱۱-۱- تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها ۴۲
۳-۱۱-۲- استخراج اسانس ۴۳
۳-۱۱-۳- روغن گیری بذر ۴۳
۳-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری ۴۳
فصل چهارم: نتایج و بحث ۴۴
۴-۱- ارتفاع ساقه ۴۵
۴ -۲- عملکرد دانه ۴۷
۴-۳- تعداد کپسول در بوته ۵۰
۴-۴- تعداد دانه در کپسول ۵۱
۴-۵- وزن هزار دانه ۵۲
۴-۶- درصد کلونیزاسیون ریشه ۵۵
۴-۷- عملکرد بیولوژیک ۵۷
۴-۸- شاخص برداشت ۶۰
۴-۹- درصد اسانس ۶۱
۴-۱۰- عملکرد اسانس ۶۵
۴-۱۱- روغن دانه ۶۸
۴-۱۲- نتیجه گیری ۷۱
پیشنهادات ۷۲
منابع ۷۳

فهرست شکل ها

شکل ۴-۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر ارتفاع ساقه ۴۷
شکل ۴-۲- مقایسه میانگین عملکرد دانه در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۴۹
شکل ۴-۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۴۹
شکل ۴-۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر تعداد کپسول ۵۱
شکل ۴-۵- مقایسه میانگین وزن هزار دانه در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۵۴
شکل ۴-۶- مقایسه میانگین وزن هزار دانه در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۵۴
شکل ۴-۷- مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۵۹
شکل ۴-۸- مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۵۹
شکل ۴-۹- مقایسه میانگین شاخص برداشت در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۶۱
شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر درصد اسانس ... ۶۵
شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر روغن دانه ۷۰

فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱- نوع و درصد اسیدهای چرب روغن سیاه‌دانه ۱۶
جدول ۲-۲- درصد اسیدهای چرب اشباعی و غیر اشباعی روغن سیاه‌دانه ۱۶
جدول ۲-۳- ترکیبات موجود در ۱۰۰ گرم دانه سیاه‌دانه ۱۸
جدول ۳-۱- مشخصات اقلیمی و جغرافیایی شهرستان شاهرود ۳۷
جدول ۳-۲- خصوصیات خاک مزرعه ۳۸
جدول ۳-۳- نقشه کاشت ۳۹
جدول ۴-۱- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر ارتفاع ساقه ۴۶
جدول ۴-۲- مقایسه میانگین ارتفاع ساقه در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۴۶
جدول ۴-۳- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد دانه ۴۸

جدول ۴-۴- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد دانه ۵۰
جدول ۴-۵- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر تعداد دانه در کپسول..... ۵۲
جدول ۴-۶- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر وزن هزار دانه ۵۳
جدول ۴-۷- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر کلونیزاسیون ریشه ۵۶
جدول ۴-۸- مقایسه میانگین کلونیزاسیون ریشه در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۵۶
جدول ۴-۹- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد بیولویک ۵۸
جدول ۴-۱۰- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر شاخص برداشت ۶۰
جدول ۴-۱۱- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر درصد اسانس ۶۳
جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین درصد اسانس در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۶۳
جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین درصد اسانس در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۶۴
جدول ۴-۱۴- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد اسانس ۶۶
جدول ۴-۱۵- مقایسه میانگین عملکرد اسانس در سطوح مختلف قارچ میکوریزا ۶۷
جدول ۴-۱۶- مقایسه میانگین عملکرد اسانس در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۶۷
جدول ۴-۱۷- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر روغن دانه ۶۸
جدول ۴-۱۸- مقایسه میانگین روغن دانه در سطوح مختلف امواج التراسونیک ۶۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

گیاهان از ابتدای تمدن بشر تاکنون کاربردهای متنوعی داشته‌اند، گروهی ماده غذایی و تأمین کننده نیازهای تغذیه‌ای هستند، گروهی خاصیت دارویی داشته و آلام جسمی را تسکین می‌دهند، گروهی نیز به صورت چند منظوره‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. ایران با بیش از ۶۰۰۰ گونه گیاه دارویی از لحاظ تنوع گیاهان دارویی، از جمله کشورهای مهم جهان است و با توجه به وضعیت بسیار مناسب آب و هوایی یکی از مناطق بسیار مهم در زمینه تولید این گونه گیاهان می‌باشد (عماد، ۱۳۷۷).

در تمدن‌های گذشته گیاهان از تقدس بسیار بالایی برخوردار بودند، آن گونه که از آن‌ها به عنوان عامل سلامت روح و جسم آدمی یاد کرده‌اند. در حدود ۷۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح در دوران آریایی‌ها، نخستین پزشک و جراح آریایی با نام تریتا که مردی دانا و توانا بود با گیاهان و خواص آن‌ها آشنایی فراوان داشت و برای درمان بیماری‌ها از عصاره‌هایی که خود از گیاهان استخراج می‌کرد استفاده می‌نمود (قاسمی، ۱۳۸۸).

مصریان ۵۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح از گیاهان دارویی استفاده می‌کردند، برای مثال از زیره سبز، مرزنجوش و بادیان (انیسون) در مومیایی اجساد و همچنین در پاپیروس‌های مقدس قدیمی استفاده می‌کردند. در تمدن‌های مهم دنیا نظیر ایران باستان، یونان، مصر، خاورمیانه، هند و چین نشانه‌های بسیاری از شناخت و کاربرد گیاهان دارویی در ۳۰۰۰ سال پیش یافت می‌شود. سایر تمدن-ها مانند بابلیان، آشوریان، مادها و تمدن اسلامی مهد پیشرفت در زمینه شناخت گیاهان دارویی بودند (توکلی دینانی، ۱۳۸۸).

از قرن هشتم تا دهم میلادی در ایران دانشمندان بزرگی چون ابوریحان بیرونی (اولین دارونامه با فهرست داروهای طبیعی را در جهان تدوین کرد)، زکریای رازی (استاد و طبیب برجسته در بغداد که

طب المنصوری و ۲۴ کتاب دیگر را در شرح تجویز دارو از منابع گیاهی به رشته تحریر در آورد) و حکیم ابو علی سینا (صاحب کتاب قانون، که از مشهورترین آثار پزشکی دنیا محسوب می شود و به بیان خواص ۸۱۱ داروی گیاهی و خواص آن پرداخت)، علی‌الهروی، زهراوی، جرجانی، محمد مومن حسینی، خاندان بختیشوع و دیگران در این عرصه فعال بوده‌اند. این آثار در همان زمان با ترجمه به زبان لاتین در اختیار اروپائیان قرون وسطی قرار گرفت و با تدریس آن در دانشگاه‌های مهم اروپایی مقدمات انجام یک رنسانس در آن کشورها فراهم آمد (قاسمی، ۱۳۸۸). در قرن سیزدهم ابن بیطار مطالعات فراوانی در مورد خواص دارویی گیاهان انجام داد و خصوصیات بیش از ۱۴۰۰ گیاه دارویی را در کتاب خود یاد آور شد (امید بیگی، ۱۳۸۴).

با ظهور داروهای شیمیایی و بیولوژیک نقش و اهمیت گیاهان دارویی در تامین سلامت بشر، در معرض فراموشی قرار گرفت. از اواسط قرن بیستم و با پیدایش عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی و سنتزی، بار دیگر توجه بشر به استفاده از مواد طبیعی موجود در گیاهان دارویی معطوف گشت و دانش گیاه درمانی به صورت جدی در بسیاری از کشورها رونق دوباره‌ای یافت، به نحوی که قرن گذشته (قرن بیستم)، از سوی سازمان خواروبار جهانی، رنسانس گیاهان دارویی نام گرفت (امید بیگی، ۱۳۷۹).

عوارض جانبی داروهای شیمیایی به دلیل ترکیبات ناخالص و بینابینی است که به هنگام سنتز آنها ایجاد می‌شود. تعدادی از محققان به صراحت اعلام کردند که بزرگترین آفت بر سلامت انسان مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از مواد رادیو اکتیو می‌باشند (امیدبیگی، ۱۳۷۵). اکنون زمینه برای انجام تحقیقات گسترده بر روی گیاهان دارویی فراهم شده و داروهایی با ماده موثره طبیعی افق جدیدی را برای جامعه پزشکان، داروسازان و پژوهشگران کشور گشوده است.

سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* L. یکی از گیاهان دارویی ارزشمند است و با توجه به کوتاه بودن دوره رشد (حدود ۱۰۰ تا ۱۲۰روز) و کم توقع بودن آن، معمولاً در مناطق خشک و نیمه خشک

ایران کشت می‌شود (امید بیگی، ۱۳۷۹). استفاده از این گیاه از قدیم الایام بین ملل مختلف معمول بوده است و درباره مزیت آن در درمان بیماری‌ها حدیث نبوی وجود دارد که نبی اکرم (ص) در این باره فرموده‌اند: "سیاه‌دانه داروی بسیاری از دردها است غیر از مرگ". همچنین حضرت رضا (ع) نیز فرموده‌اند: از بوییدن گل نرگس (*Narsisas tazita*) در زمستان، غفلت نکنید زیرا بوی آن بر طرف کننده زکام است و این خاصیت در سیاه‌دانه نیز وجود دارد (جانزاده، ۱۳۷۷). بقراط در آثار خود از این گیاه نام برده و دیسکورید مصرف آن را به صورت پاشیدن بر روی نان و مداوای بسیاری از بیماری‌ها توصیه کرده است (زرگری، ۱۳۶۸). همچنین ابن سینا همین روش استفاده را برای بیمارانش تجویز می‌کرده است (بابایی، ۱۳۷۴).

سیاه‌دانه دارای دانه ارزشمند و بقیه اجزای آن غیر خوراکی است. دانه‌ها بویی شبیه بوی کافور داشته که در وحله اول تلخ است و به عنوان چاشنی در پخت نان، برای خوش طعم و معطر ساختن ترشی جات، مربا و پنیر در نواحی مختلف دنیا کاربرد دارد (میر حیدر، ۱۳۷۴). روغن دانه سیاه‌دانه یا عصاره آن دارای خواص درمانی بسیاری است. مواد مؤثره سیاه‌دانه زیاد کننده شیر، مسهل، ضد نفخ، پایین آورنده قند خون و تسکین دهنده سردرد و دندان درد می‌باشد. همچنین برای این گیاه خواص ضد سرطانی (ورسن و همکاران، ۱۹۹۸)، ضد حساسیت و ضد دیابت (مهاجر و همکاران، ۱۹۹۹)، ضد میکروبی (مورسی، ۲۰۰۰) و اثر تحریک کنندگی سیستم ایمنی (سالم و حسین، ۲۰۰۰) گزارش شده است. اغلب این خواص به دلیل وجود ترکیبات کینونی مثل: تیموکینون و دی تیموکینون در دانه است (گوشه و همکاران، ۱۹۹۸).

با توجه به علاقه روز افزون برای مصرف گیاهان دارویی و معطر در سراسر جهان، این نیاز وجود دارد که سطح زیر کشت و عملکرد گیاهان دارویی را توسعه دهیم. با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، نکته قابل توجه در تولید و پرورش این گونه‌های ارزشمند افزایش عملکرد آنها بدون کاربرد نهاده‌های مضر شیمیایی است. کودهای شیمیایی علاوه بر تخریب ویژگی‌های

فیزیکی و شیمیایی خاک باعث آلودگی‌های محیطی و صدمات اکولوژیکی می‌شوند و تهدیدی بر پایداری سیستم‌های کشاورزی می‌باشند. بنابراین بایستی از کودهای زیستی و تکنولوژی‌های جدید غیر مخرب مانند التراسونیک برای افزایش عملکرد استفاده کرد، تا هم سلامت انسان و هم پایداری منابع طبیعی تضمین شود.

با توجه به مطالب ذکر شده، پژوهش حاضر جهت مطالعه تأثیر قارچ میکوریزا به عنوان کود زیستی و امواج التراسونیک و تلفیق این دو بر گیاه سیاه‌دانه اجرا گردید. قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار (AM) جزء اصلی فلور محیط ریشه گیاهان در بوم نظام‌های طبیعی می باشند (پن ور و طرفدار، ۲۰۰۶) که رابطه همزیستی با بیشتر نهاندانگان از جمله گیاهان دارویی دارند (ونکتشور و همکاران، ۲۰۰۰). قارچ میکوریزا آرباسکولار رشد گیاهان را از طریق افزایش جذب فسفر قابل دسترس خاک و دیگر مواد غذایی لازم برای رشد بهبود می‌بخشد، همچنین آنها با ایجاد ثبات در خاکدانه‌های خاک، فرسایش و اثرات تنش ناشی از عوامل زنده و غیر زنده خاک را کاهش می‌دهند (اسمیت و رید، ۲۰۰۸). ریگو و میگنارد (۱۹۴۴) اظهار کردند که ریشه‌های میکوریزایی دارای خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متفاوتی از ریشه گیاه هستند که این امر می‌تواند در افزایش جذب فسفر موثر باشد. اورتوس و هاریس (۱۹۹۶) گزارش کرده‌اند که استفاده از قارچ میکوریزا سرعت رشد گیاه را افزایش داده و بر تخصیص و انتقال عناصر غذایی بین ریشه وساقه اثر داشته به طوری که با افزایش جذب عناصر غذایی و انتقال آنها وزن خشک اندام هوایی افزایش یافت. همچنین تورک و همکاران (۲۰۰۶) اظهار کردند که نقش اصلی قارچ‌های میکوریزا تأمین فسفر برای ریشه گیاه است، زیرا فسفر در خاک عنصری فوق العاده کم تحرک است.

افزایش تقاضای روز افزون مصرف کنندگان برای استفاده از محصولات با کیفیت منجربه استفاده از تکنولوژی‌های جدید و بدون عوارض مانند التراسونیک شده است. التراسونیک به کیفیت محصولات غذایی (ارزش غذایی و ترکیبات شیمیایی) آسیبی نمی‌رساند. امواج فراصوت (*Ultrasound*) دارای

فرکانسی بیشتر از بازه فرکانسی شنوایی انسان هستند. بازه فرکانسی شنوایی افراد متفاوت است و با بالا رفتن سن این بازه کاهش می‌یابد. ولی معمولا بالاترین فرکانس شنوایی انسان حدود ۲۰ و یا ۲۵ کیلوهرتز در نظر گرفته می‌شود. تشخیص صدمات فیزیکی وارد شده به بذر یکی از کاربردهای امواج التراسونیک می‌باشد. از امتیازات مهم این روش توانایی آن در تشخیص صدمات جزئی بوده که به علت فرکانس بالای این امواج و در نتیجه طول موج بسیار کوچک آن‌ها می‌باشد. امواج فراصوت به عنوان یک فناوری پیشرفته، کاربردهای زیادی در علوم و صنایع مختلف، از جمله کشاورزی و صنایع غذایی پیدا کرده است. به طوری که از آن به عنوان "کمک فرایند"، همراه با سایر فرایندهای فراوری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مثلاً از امواج فراصوت برای حذف قلیا در فرایند خشک کردن انگور و تهیه کشمش استفاده می‌شود.

مکانیسم اثر امواج فراصوت با فرکانس پایین به طور کلی به علت ایجاد حباب‌های بسیار ریزی است که در اثر انقباض و انبساط لحظه‌ای و نقطه‌ای ناشی از حرارت و فشار فوق العاده زیاد درمحیط مایع ایجاد می‌شوند (در زمانی معادل یک هزارم ثانیه دما به ۵۵۰۰ درجه سانتی گراد رسیده و فشار تا 5×10^4 کیلو پاسکال افزایش می‌یابد). این وضعیت باعث تغییرات فیزیکی و شیمیایی مولکول‌های مجاور می‌شود. از این امواج نه تنها در تیمارهای بذری وکاهش وحذف آفات و بیماری‌ها استفاده می‌شود، بلکه در مهندسی ژنتیک و انتقال ژن نیز کاربرد دارد.

بررسی‌های زیادی در خصوص تأثیر امواج فراصوت انجام شده است. پژوهش‌های مسکوکی و مرتضوی (۱۳۸۰) حاکی از اثر مثبت این امواج بر استخراج آنتوسیانین از میوه‌ها و پایداری آن در شرایط مختلف بوده است. علاوه بر آنتوسیانین‌ها، ترکیبات دیگری مثل پلی فنل‌ها، پلی ساکاریدها، ترکیبات آروماتیک و سایر رنگدانه‌ها را توانسته‌اند با استفاده از امواج فراصوت در مدت زمانی کوتاه با کارایی بالا استخراج نمایند (ویلخ و ماوسون، ۲۰۰۷).

بین تضعیف امواج فراصوتی عبور کرده از میان بافت با رسیدگی هندوانه یک همبستگی بالایی وجود داشته است (کلارک و شاکلفورد، ۱۹۷۵). می‌توان از امواج فراصوت در درجه بندی میوه‌ها و سبزیجات از نظر رسیدگی استفاده نمود (میزارچ و گالیلی، ۱۹۹۶). استفاده از امواج فراصوت به عنوان یک روش اقتصادی در افزایش بهره‌وری وکاهش زمان خشک کردن انگور در تهیه کشمش شناخته می‌شود (مسکوکی و مرتضوی، ۱۳۸۶). تیمار التراسونیک با تولید حباب‌هایی در داخل مایعات ایجاد نقاط داغ کرده و بدین ترتیب باعث افزایش انتقال گرما و انهدام میکروارگانیسم‌ها می‌شود (ایشیموری و همکاران، ۱۹۸۱؛ ساسلیک، ۱۹۹۰). در پژوهشی دیده شد که استفاده از این امواج می‌تواند به کاهش ۳۰ تا ۴۵ درصدی زمان تا جوانه‌زنی بذور جو و افزایش درصد جوانه زنی منجر گردد (یلداگرد و همکاران، ۲۰۰۸).

اکنون این سوال مطرح است که آیا کاربرد توأم قارچ میکوریزا و امواج فراصوت می‌تواند عملکرد را به صورت سینرژیسم متأثر نماید؟

فصل دوم

مرور منابع

۲-۱- سیاه‌دانه

۲-۱-۱- تاریخچه و مبداء

بیش از دو هزار سال است که از سیاه‌دانه به عنوان گیاه دارویی استفاده شده است (تانسر و کزل، ۲۰۰۴). کشف سیاه‌دانه در معبد توتان خام به این نکته اشاره دارد که این گیاه در طب مصر قدیم از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بوده است. اولین دست نوشته در مورد سیاه‌دانه در کتاب اشعیاء بنی اسرائیل، تحت عنوان عهد و وصیت نامه قدیم، یافت شده است. سیاه‌دانه دارای زمینه تاریخی و مذهبی در بین اقوام و ملل است، به طوری که میلیون‌ها نفر در نواحی مدیترانه و شبه قاره هند روزانه از روغن دانه آن در پیشگیری طبیعی و یا در درمان بیماری‌ها استفاده می کنند (گوشه، ۱۹۹۸). استفاده از این گیاه از قدیم الایام بین ملل مختلف معمول بوده است و درباره مزیت آن در درمان بیماری‌ها حدیث نبوی وجود دارد که نبی اکرم (ص) در این باره فرموده اند: "سیاه‌دانه داروی بسیاری از دردها است غیر از مرگ". همچنین حضرت رضا (ع) نیز فرموده اند: از بوییدن گل نرگس (*Narsisas tazita*) در زمستان، غفلت نکنید زیرا بوی آن بر طرف کننده زکام است و این خاصیت در سیاه‌دانه نیز وجود دارد (جانزاده، ۱۳۷۷). بقراط در آثار خود از این گیاه نام برده و دیسکورید مصرف آن را به صورت پاشیدن بر روی نان و مداوای بسیاری از بیماری‌ها توصیه کرده است (زرگری، ۱۳۶۸). همچنین ابن سینا همین روش استفاده را برای بیمارانش تجویز می کرده است (بابائی، ۱۳۷۴).

پراکندگی جهانی این گیاه بیشتر در نواحی مختلف شمال آفریقا، جنوب آفریقا، جنوب اروپا، مناطق مدیترانه‌ای تا هندوستان، غرب و جنوب شرقی آسیا و استرالیا می باشد (فیلیپو و همکاران، ۲۰۰۲؛ باسیم، ۲۰۰۳). همچنین به صورت زراعی و خودرو در ترکیه، ایران، پاکستان، هند و چین کشت می شود. پراکنش این گیاه در ایران، در نواحی مرکزی (اراک و تفرش)، شمال (لوشان)، شمال غربی (تبریز)، جنوب (استان فارس)، شرق (بیرجند و گناباد) و جنوب شرقی (کرمان) مشاهده می-

شود. همچنین در استان‌های اصفهان، کهکیلویه و بویر احمد، خراسان و همدان نیز به صورت پرورشی کشت می‌شوند (فلوک، ۱۳۶۸؛ قهرمان، ۱۳۶۲).

۲-۱-۲- رده بندی

سیاه‌دانه (*Nigella* sp.) در سیستم طبقه بندی گیاهان متعلق به رده دو لپه‌ای‌ها، زیر رده جدا گلبرگان، راسته رانالس (Rannales) و تیره آلاله (Ranunculaceae) می‌باشد (باسیم، ۲۰۰۳). که شامل سه گونه زراعی (*N.sativa L.*)، سیاه‌دانه دمشقی (*N.damascena*) و سیاه‌دانه هرز (*N.arvensis*) می‌باشد.

رایج ترین گونه، زراعی است که به فارسی به آن سیاه‌دانه، سیاه‌تخمه و شونیز گفته می‌شود و می‌توان آن را از دیگر گونه‌ها به وسیله کاسبرگ‌های پتالوئید (گلبرگ نما) آبی رنگ، بذور سیاه‌رنگ مثلثی شکل و میوه‌های کپسول مانند که دارای برچه‌های به هم پیوسته در نوک (رأس میوه) می-باشد، تشخیص داد.

گونه زراعی دارای چندین رقم به شرح زیر می‌باشد (بابائی، ۱۳۷۴؛ قهرمان، ۱۳۶۲):

۱- *N.sativa* var. sativa که دارای برگ‌های بزرگ، انشعاب کم و گل‌های درشتی است و در مقیاس وسیع و در مناطق جنوبی اورآسیا کشت و کار می‌شود.

۲- *N.sativa* var. brachyloba که بسیار منشعب با کرک‌های زیاد و برگ‌های کوتاه می‌باشد و در غرب ایران و در اطراف اراک یافت می‌شود.

۳- *N.sativa* var. punctalis که کپسول آن مزین به خال‌ها یا نقطه‌های سفید رنگ است و در اطراف تفرش یافت می‌شود.

۴- *N.sativa* var. hispidula که نسبت به واریته sativa دارای برگ‌های کوچکتر، انشعابات کمتر و گل‌های کوچکتری است.

سیاه‌دانه دمشقی کمتر مورد بررسی و تحقیق علمی قرار گرفته است. از مشخصات بارز سیاه‌دانه هرز که آن را به خوبی از گونه‌های دیگر متمایز می‌سازد آن است که برچه‌هایش در $\frac{2}{3}$ طول خود به هم پیوستگی دارند.

۲-۱-۳- گیاهشناسی

سیاه‌دانه گیاهی علفی، یکساله با حالت رشدی مستقیم است که ریشه اصلی آن به رنگ قهوه‌ای متمایل به زرد بوده، حالت مخروطی به خود گرفته و از رشد خوبی برخوردار است. ریشه اصلی توانایی تولید ریشه‌های فرعی ثانویه و ثالثیه را دارد. ساقه این گیاه تا ارتفاع ۷۰ سانتیمتر رشد کرده، شدیداً منشعب، نیمه استوانه‌ای و شیاردار بوده و اغلب با مسن شدن گیاه توخالی، کم کرک و به رنگ سبز تیره یا روشن در می‌آید. پهنک برگ‌ها (با ابعاد ۷×۵ سانتیمتر) در این گیاه با ۱ تا ۳ بار تقسیمات شانه‌ای عمیق (به صورت لوب‌های نازک خطی که اصطلاحاً به آن صفت پر مانند اطلاق می‌شود) دارای برگچه‌های مجزا بوده که معمولاً سبز رنگ بوده و با مسن شدن بوته به رنگ قرمز قهوه‌ای در می‌آیند. گل آذین آن از نوع گرزن بوده و دارای گل‌های تکی (منفرد) در انتهای شاخه‌هاست. گل‌ها در این گیاه نا منظم و در مرحله جوانی به رنگ سبز رنگ پریده (رنگ شیری با کنارهٔ مایل به سبز یا مایل به آبی) ظاهر می‌شوند و با بالغ شدن به رنگ آبی کم رنگ یا سفید در می‌آیند. دمگل ۸-۴ سانتی‌متر طول داشته و به یک نهنج فشرده شده به پهنای ۲ میلی‌متر و به رنگ قهوه‌ای/ زرد متصل شده است. کاسبرگ‌های رنگین تخم مرغی شکل گل‌ها به تعداد ۵ عدد و به ابعاد ۱۷×۱۲ میلی‌متر در قسمت قاعده نوک تیز و باریک شده و در داخل یک ناخنک (حاصل از قسمت باریک شده گلبرگ‌ها) به طول ۳-۲ میلی‌متر جای میگیرند. گلبرگ‌ها به تعداد ۸-۵ عدد و هر کدام دارای نوش جای و یک ناخنک فاقد کرک می‌باشند. پرچم‌ها در هشت گروه سه تا هفت تایی قرار دارند که در ابتدای تشکیل

به صورت مستقیم و با مسن شدن حالت افقی به خود می‌گیرند. مادگی مرکب بوده، ۹-۴ میلی‌متر طول داشته و یک کلاله به طول ۹-۵ را دارا می‌باشد. گلدهی در این گیاه به صورت پروتاندری بوده و گرده افشانی عمدتاً بوسیله حشرات صورت می‌گیرد. در گل‌های مسن تر، پرچم‌ها خم شده و ممکن است خود گرده افشانی صورت پذیرد. میوه آن از نوع کپسول (با ضخامت ۱۶×۱۲میلی‌متر) بوده و در ابتدای تشکیل خاکستری رنگ و با بالغ شدن به رنگ زرد قهوه‌ای در می‌آید. بذرها نیمه مخروطی شکل یا سه گوش، با ۳-۱/۵ میلی‌متر طول و ضخامت ۳×۲ میلی‌متر و مغز آن سفید رنگ می‌باشد (کورپا، ۱۹۹۸؛ ملهوترا، ۲۰۰۴a)

۲-۱-۴- موارد مصرف و خواص دارویی و درمانی

سیاه‌دانه به عنوان یکی از مهمترین گیاهان دارویی شفا بخش، سالیان متمادی مورد توجه بشر بوده است. این گیاه هزاران سال (بالغ بر ۲۰۰۰ سال) است که بطور سنتی و به عنوان یک درمانگر طبیعی جهت تقویت سیستم ایمنی بدن، تمیز کردن بدن، تصویه خون، محافظت بدن در برابر مواد التهاب آور و حساسیت‌زا و تضمین عمر طولانی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. دیوسکورید (فیزیکدان یونانی) در قرن اول میلادی به بعضی از خواص درمانی سیاه‌دانه اشاره و آنها را یادداشت کرده است که از آن جمله می‌توان به کاربرد آن در درمان سردرد، کرم کش، مدر، تقویت قاعدگی و افزایش تولید شیر اشاره کرد.

در طب یونانی-عربی/ یونانی-تبتی که از زمان بقراط و هم دوره‌های آن یعنی جالینوس و ابن سینا شروع شده است، بذور سیاه‌دانه به عنوان یک درمانگر مفید و ارزشمند در نابسامانی‌های کبدی و هضمی مورد توجه بوده است. همچنین اشاره شده است که سیاه‌دانه به علت دارا بودن طبیعت گرم و خشک، به عنوان یک محرک در شرایط عدم تعادل افراد سرد مزاج ایفای نقش می‌کند. ابن سینا، که به خاطر تالیف کتاب قانون در طب خود از شهرت زیادی برخوردار است، به این نکته اشاره دارد که

بذور سیاه‌دانه انرژی و نیروی بدن را تحریک می‌کند و به بازیابی روحیه و بهبود خستگی، کوفتگی و ضعف روحیه کمک می‌کند.

سیاه‌دانه دارای دانه ارزشمند، و بقیه اجزای آن غیر خوراکی است. دانه‌های آن بویی شبیه کافور داشته که در وهله اول تلخ است و به عنوان چاشنی در پخت نان، برای خوش طعم و معطر ساختن ترشیجات، مربا، پنیر، سس و آشامیدنی‌های سرکه‌ای و الکلی در نواحی مختلف دنیا کاربرد دارد. به صورت پودر یا خیسانده نیز استفاده می‌شود ولی نباید آن را دم کرد زیرا اسانس آن از بین می‌رود (میر حیدر، ۱۳۷۴).

در هند سیاه‌دانه به عنوان محرک، بادشکن، مدر، قاعده آور و زیادکننده ترشح شیر تجویز می-شود (میر حیدر، ۱۳۷۴). به منظور کاستن از مدت و شدت اثر آن، با روغن کنجد مخلوط کرده و در استعمال خارجی برای فروکش کردن تاول‌های پوست و از بین بردن خال‌های بدن و زگیل مصرف می‌کنند به علاوه در موارد گزش نیش عقرب نیز مفید است (صابری، ۱۳۷۰). در شبه جزیره مالایا، سیاه‌دانه مخلوط با داروهای دیگر به صورت ضماد برای آبسه‌ها، روماتیسم، ورم گوش، زخم بینی و سر درد مصرف می‌شود. همچنین از آن محلولی درست می‌کنند که بیماران تب دار را با آن کمپرس می-کنند و یا از آن محلول به صورت غرغره استفاده می‌شود. از سیاه‌دانه برای ترمیم ضعف بدن و رفع مسمومیت‌های خون و در موارد بزرگ بودن کبد، تهوع، شکم درد، یبوست و برای تقویت زنان پس از وضع حمل تجویز می‌شود (میر حیدر، ۱۳۷۴).

از نظر حکمای طب سنتی سیاه‌دانه دارای طبیعتی خیلی گرم و خشک است و نیروی دارویی آن تا هفت سال باقی می‌ماند، گرم کننده است، رطوبت‌ها را خشک، اخلاط را اعتدال می‌بخشد و نوع غلیظ آن را رقیق می‌نماید. این گیاه گرده زیادی تولید کرده و عسل دهنده خوبی نیز است (زرگری، ۱۳۶۸؛ بابائی، ۱۳۷۴).

برای تسکین سر درد، سرفه سرد، درد سینه، ناراحتی تنفسی، استسقاء، تهوع، آشفتگی، یرقان، ناراحتی طحال و قولنج‌های نفخی به صورت خوردن یا ضماد مفید است. ترشح ادرار را زیاد می‌کند و اگر با روغن سرخ شده و خورده شود برای شفاف کردن رنگ صورت، تسکین درد رحم و دردهای پس از زایمان نافع است. اگر سرخ کرده آن را کوبیده و با روغن زیتون (*Olea sp.*) چند دقیقه جوش داده و سپس چند قطره از آن را در بینی بچکانند برای رفع زکام که با عطسه همراه باشد مفید است. خوردن روغن آن مخلوط با روغن زیتون و کندر (*Boswellia boswelligue*) برای افزایش نیروی جنسی، برگشت میل جنسی افراد مسن یا جوان بسیار مفید است (فلوک، ۱۳۶۸؛ جانزاده، ۱۳۷۷).

در زمینه اثر ضد سرطانی سیاه‌دانه پژوهش‌های زیادی انجام شده و مشخص شده است که سیاه-دانه در درمان سرطان‌های پوستی موثر بوده و علیه چندین تومور سرطانی، اثر درمانی دارد که خاصیت ضد سرطانی آن را اغلب به علت اسیدهای چرب اصلی موجود در روغن دانه‌هایش دانسته اند (سالومی و همکاران، ۱۹۹۲).

در رابطه با خواص ضد میکروبی سیاه‌دانه پژوهش‌های وسیعی صورت گرفته و خاصیت ضد باکتریایی و قارچی روغن آن بر علیه تعداد زیادی از باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا به اثبات رسیده است (آکگل، ۱۹۸۹) و مشخص گردیده که فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد قارچی سیاه‌دانه در اثر کارون موجود در روغن آن می‌باشد (راتی و همکاران، ۱۹۸۲).

اثر شیرسازی سیاه‌دانه توسط لطفی(۱۳۷۰) و خوران وهمکاران (۱۹۹۶) به اثبات رسیده است. در بعضی از این بررسی‌ها مشخص گردید، که مصرف سیاه‌دانه از تزریق روزانه استروژن به منظور شیرسازی و افزایش شیردهی موثرتر بوده است.

در بررسی‌های الهادر و همکاران (۱۹۹۳) مشخص گردید که سیاه‌دانه در کاهش قند خون و درمان دیابت موثر بوده است. خان و همکاران (۱۹۹۸) نیز در بنگادش تأثیر سیاه‌دانه بر کاهش فشار خون را بررسی نموده و موثر بودن آن را به اثبات رساندند.

همچنین استفاده از سیاه‌دانه در درمان آسم، جلوگیری از باروری و سقط جنین و افزایش باروری به کمک آن نیز گزارش شده است (بابایان و همکاران، ۱۹۷۸؛ یوسف و همکاران، ۱۹۹۸). علاوه بر موارد ذکر شده، از سیاه‌دانه برای درمان تهوع، سنگ مثانه و کلیه، اخراج کرم روده و معده انسان و شکمبه گوسفند، بواسیر، زردی و دفع آن، زخم‌های سوداوی ساق پا، نفخ شکم، معده و روده، رفع ریزش موی سر و رویاندن موی سر و ریش، رفع سستی اعصاب، بورنشیت و دل به هم خوردگی نیز استفاده می‌گردد (جانزاده، ۱۳۷۷).

۲-۱-۵- ترکیبات موجود در دانه

۲-۱-۵-۱- روغن

دانه شامل ۴۰-۳۰ درصد روغن است و می‌توان گفت که روغن آن در رده روغن‌های نیمه خشک جای می‌گیرد (استون و همکاران، ۱۹۹۰). در یک نگاه کلی، کمیت و کیفیت روغن شونیز و ارزش تغذیه ای بذور آن در جدول ۲-۱ آمده است.

جدول ۲-۱- نوع و در صد اسیدهای چرب روغن سیاه‌دانه

اسیدهای چرب	درصد در روغن سیاه‌دانه
Myristic Acid (C14:0)	0.5
Palmitic Acid (C16:0)	13.7
Palmitoleic Acid (C16:1)	0.1
Stearic Acid (C18:0)	2.6
Oleic Acid (C18:1)	23.7
Linpleic Acid (C18:2)(Omega-6)	57.9
Linoleic Acid (18:3n-3)(omega-3)	0.2
Arachidic Acid (C20:0)	1.3

جدول ۲-۲- درصد اسیدهای چرب اشباعی و غیر اشباعی روغن سیاه‌دانه

اسیدهای چرب اشباعی و غیر اشباعی	درصد در روغن سیاه‌دانه
Saturated Acid	18.1
Monounsaturated Acid	23.8
Polyunsaturated Acids	58.1

گلیسیریدهای برخی از اسیدهای فرار به مقدار کم در روغن موجود هستند که شامل: تانن، رزین، پروتئین، قندهای احیایی، سیستین، لیزین، آسپارتیک اسید، لوسین می‌باشند اما آسپاراژین موجود نمی‌باشد (پراچپشا و همکاران، ۲۰۰۳).

۲-۱-۵-۲- اسانس

دانه شامل ۰/۵ تا ۱/۵ درصد اسانس است. اسانس موجود در بذور این گیاه را می‌توان به دو روش متداول: حلال شیمیایی و تقطیر با آب و بخار، استخراج نمود. اسانس آن مایعی زرد رنگ و سیال بوده، بوی نامطبوعی داشته و مزه و طعم آن شبیه سرو کوهی (پیرو) می‌باشد. مؤلفه‌های اصلی اسانس سیاه‌دانه شامل ترکیبات مونوترپنی و دیترپنی می‌باشد. آنالیز اسانس این گیاه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مبین وجود چهار ترکیب عمده با نام های تیموکوئینون[۱]، دی‌تیموکوئینون[۲]، که آن را نیژلون[۳] هم می‌نامند، تیموهیدروکوئینون[۴] و تیمول[۵] را محرز ساخته است. تیموکوئینون ترکیب عمده اسانس شونیز بوده و اکثر خصوصیات منحصر به فرد فارماکولوژیکی بذور آن به وجود این ترکیب وابسته است (زرگری، ۱۳۶۸؛ میر حیدر، ۱۳۷۴؛ الهادر و همکاران ۱۹۹۳).

۲-۱-۵-۳- پروتئین

دانه شامل ۲۰ تا ۲۲ درصد پروتئین می‌باشد و دارای ۱۵ نوع اسید آمینه است که ۹ عدد از آنها اسیدهای آمینه ضروری بوده و مهم‌ترین آن‌ها آرژنین (۱۹/۵٪)، اسید گلوتامیک (۱۳/۵٪) و لوسین (۱/۵٪) است همچنین دارای یک ساپونوئید به نام ملانتین به مقدار ۱/۴ درصد است، که اگر تجزیه شود، به موادی نظیر گلوکوز و ملانتی ژنین تبدیل می‌شود (بابایان و همکاران،۱۹۷۸).

ترکیبات موجود در ۱۰۰ گرم دانه سیاه‌دانه از اروپا و اتیوپی در جدول ۲-۳ نشان داده شده است (تاکروری و داما، ۱۹۹۳).

[1]-Thymoquinone
[2]-Dithymoquinone
[3]-Nigellone
[4]-Thymohydroquinone
[5]-Thymol

جدول ۲-۳ ترکیبات موجود در ۱۰۰ گرم دانه سیاه‌دانه

Constituents	European seed	Ethiopian seed
Moisture (g)	4	6.6
Protein (g)	22	13.8
Fat (g)	41	32.2
Carbohydrate (g)	17	-
Fibre (g)	8	16.4
Ash (g)	4.5	7.5
N (g)	-	2.2
Na (g)	0.5	-
K (g)	0.5	-
Ca (g)	0.2	0.5
P (g)	0.5	0.6
Fe (mg)	10	17
Thiamine (mg)	1.5	0.62
Niacin (mg)	6	9.5
Pyridoxine (mg)	0.7	-
Tocopherol (mg)	34	-

۲-۱-۶- زراعت سیاه‌دانه

۲-۱-۶-۱-کشت و کار

شرایط و عملیات کشت و کار مورد نیاز برای گیاهان خانواده چتریان، برای گیاه سیاه‌دانه نیز مناسب می‌باشد. سیاه‌دانه به وسیله‌ی بذر تکثیر می‌شود (ملهوترا، ۲۰۰۲). می‌توان یا بذر را در بستری مناسب کشت کرد و سپس عمل نشا کاری را انجام داد که در این حالت علاوه بر مشکل بودن، میزان تلفات نشا نیز بالاست و یا اینکه می توان بذر را به طور مستقیم در زمین مورد نظر کشت کرد. خان و چاترجی (۱۹۸۲) در آزمایشی با کاربرد دو تیمار خاک‌ورزی حداقل مشاهده نمودند که عملکرد

حاصله در تیمارهای خاک‌ورزی حداقل به طور معنا داری کمتر از عملکرد حاصل از تیمارهای با ۴ مرتبه خاک‌ورزی معمولی بود. تا جایی که امکان پذیر است باید از بذور تازه برای این کار استفاده نمود ولی اگر بذرها در جای خنک و تاریک انبار نگهداری شوند به مدت ۳-۲ سال قوه‌ی نامیه خود را حفظ می‌کنند ولی ممکن است ظهور گیاهچه‌ها نا منظم صورت پذیرد. مدت زمان نرمال برای جوانه زنی بذور ۱۲روز بوده و با افزایش دمای بستر کشت تسریع می گردد. مقدار بذور مورد نیاز برای یک هکتار، ۸ کیلوگرم و فاصله بین ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته می شود. بعد از سبز شدن بذور و انجام عمل تنک کردن، فاصله بین بوته‌ها در روی ردیف‌ها ۲۰-۱۵ سانتی‌متر منظور گردیده است (ملهوترا، ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲).

۲-۱-۶-۲- خاک و کودهای شیمیایی

سیاه‌دانه قادر به تولید حداکثر عملکرد در خاک‌های شنی لومی با واکنش شیمیایی خنثی می-باشد ولی در کل توانایی رشد و نمو در خاک‌هایی با محدوده pH، ۵ تا ۸ را دارا می باشد. کشاورزان خرده پا این گیاه را به طور موفقیت آمیزی در تقریباً هر نوع زمین و شرایط خاکی پرورش می دهند. در یک زمین نرمال، ممکن است در زمان آماده سازی زمین ۱۵-۱۰ تن در هکتار کود دامی کاملاً پوسیده، ۳۰ کیوگرم نیتروژن، ۶۰ کیلوگرم فسفر و ۲۰ کیلوگرم پتاسیم در هکتار به کار برده شود. همچنین ۳۰ کیلوگرم نیتروژن نیز در دو قسمت ۴۰ و ۶۰ روز پس از کاشت استفاده می‌شود (ملهوترا، ۲۰۰۲).

۲-۱-۶-۳- نیازهای اکولوژیکی

سیاه‌دانه تحت شرایط اقلیمی متنوعی قابلیت کشت و کار دارد ولی در مناطق سردتر با دامنه دمایی ۲۵-۵ درجه سانتی‌گراد و دمای بهینه ۱۴-۱۲ درجه سانتی‌گراد از رشد و نمو بهتری برخوردار است. بوته‌های این گیاه در هر مرحله‌ای از رشدشان به یخبندان حساسند و این مسئله دامنه‌ی

پراکنش آن را در اروپا و نواحی مرتفع اقلیم‌های گرمسیر محدود کرده است. در نیمکره شمالی، سیاه-دانه در اواخر بهار-اوایل تابستان کشت می شود، ولی در مناطق دارای فصول خشک و مرطوب فقط بعد از اولین بارندگی‌ها کشت صورت می گیرد. کولتیوارهای منطقه‌ای، در ارتفاع ۲۵۰۰ متری از سطح دریا قابلیت رشد دارند و ظاهراً با افزایش ارتفاع کاهش در عملکرد صورت می گیرد.

بارندگی در حدود ۵۰۰-۴۰۰ میلی‌متر منجر به تولید محصول در حد مطلوب می گردد، ولی میزان بالاتر از این حد سبب آب گرفتگی خاک و آسیب به گیاه می گردد. قابل ذکر است که این گیاه در هر مرحله‌ای از رشدش به آب گرفتگی حساس است. کولتیوارهای سیادانه قادرند تنش رطوبتی را به طور قابل توجهی تحمل کنند (شرایطی که در آفریقای شمالی و آسیای غربی توسعه پیدا کرده است) و انواع وحشی آن می تواند در شرایط تقریباً خشک به زندگی و رشد خود ادمه دهند اما برای انواع کشت و کار شده، بارندگی پایین تر از سطح بهینه عموماً منتج به عملکرد بذری کمتر می شود (ملهوترا، ۲۰۰۲).

دوک (۱۹۸۲)، شرایط زیر را برای رشد سیاه‌دانه ذکر کرده است: دمای کمینه، بهینه و بیشینه به ترتیب ۷/۸، ۱۳ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد، بارش کمینه، بهینه و بیشینه به ترتیب ۴۳۰ و ۷۹۰ و ۱۵۳۰ میلی‌متر و pH کمینه، بهینه و بیشینه به ترتیب ۶/۵ , ۶/۹ و ۸/۲.

۲-۱-۶-۴- داشت

آبیاری: یک آبیاری سبک بلافاصله بعد از کاشت در صورتی که رطوبت اولیه کم باشد باید انجام شود. ابتدا آبیاری به فاصله هر ۶-۵ روز یکبار و سپس هر ۱۵-۱۰ روز بسته به شرایط آب و هوایی و نوع خاک می‌باشد. گلدهی و تشکیل دانه دو مرحله مهم است که نیاز به آبیاری دارد (ملهوترا، ۲۰۰۲).

آفات و بیماری‌ها: بیماری جدی به جزء پوسیدگی ریشه برای این گیاه مشاهده نشده است که سبب تجمع رایزوکتونیا و فوزاریوم می‌شود. علائم شروع این بیماری با زرد شدن و پژمردگی برگ‌ها و

در نتیجه مرگ نابهنگام گیاه است و کاهش جدی در عملکرد به وجود می‌آورد. اقدامات کنترلی کاملی در دسترس نیست اما شیوع آن را با تیمار دانه‌ها قبل از کاشت، شخم تابستانه عمیق و اتخاذ تناوب زراعی مناسب می‌توان کاهش داد. همچنین شته ها نیز گزارش شده‌اند. در اتیوپی، لارو ارمی ورم (*Spodoptera litura*) و سرکوسپورای لکه برگی (*Cercospora nigellae*) گزارش شده است که منجر به خسارت محصول شده‌اند. که برای آنها اقدامات کنترل شیمیایی مناسب در دسترس می‌باشد. رحمان (۱۹۹۴) مهمترین آفت سیاه‌دانه در پاکستان را *Heliothis armigera* معرفی نموده است. در مزرعه مورد حمله این آفت در ۷۳ درصد میوه‌های آفت زده، دانه‌ها کاملاً از بین رفته و در ۲۷ درصد باقی‌مانده نیز کاهش تعداد دانه را به همراه داشته است.

۲-۱-۶-۵- برداشت

زمانی به برداشت کپسول‌های سیاه‌دانه اقدام می شود که اکثر آن‌ها به رنگ زرد در آمده باشند. باید توجه داشت که رسیدگی به طور کامل صورت نگیرد، زیرا در این مرحله کپسول‌ها به راحتی ریزش خواهند کرد. عمل برداشت بوته‌ها به وسیله دست یا با استفاده از ماشین دروگر انجام می‌پذیرد. بوته‌های برداشت شده را خشک می‌کنند و بعد از آن اقدام به خرمنکوبی و از کپسول در آوردن بذور می‌شود که این عمل در سطح کم به وسیله ضربه زدن با چوب امکان پذیر است. به طور میانگین عملکردی معادل ۷۰۰-۶۰۰ کیلوگرم از یک هکتار مزرعه بدست می‌آید. بذور به دست آمده به وسیله دست یا ماشین بوجاری شده و ترجیحاً در داخل گونی قرار داده و گونی‌ها را تحت شرایط خشک انبار می‌کنند (جهت حفظ ارزش عطری و طعمی بذور). تنها محصول تجاری مهم این گیاه میوه‌های خشک آن می باشد که اصطلاحاً به عنوان بذر سیاه‌دانه (Nigella seed) مطرح می شود. بذور باید دارای رنگی سیاه بوده، سالم باشند و از یکنواختی در اندازه برخوردار باشند، هنگامی که آنها را له می-کنیم باید بویی تند، زننده و قوی از خود متصاعد کنند و به علاوه مزه آنها باید معطر، روغنی، تند و زننده و با طعم فلفل سیاه و گردو باشد.

۲-۲- میکوریزا

واژه میکوریزا (Mycorrhiza)، قارچ-ریشه (Fangus-Root)، در سال ۱۸۸۵م. توسط فرانک، گیاه شناس آلمانی برای نوعی همزیستی دو جانبه مفید بین انواع خاصی از قارچ‌های خاک‌زی و سیستم ریشه‌ای گیاهان وضع گردید (احمدی و همکاران، ۱۳۸۳). همزیستی میکوریزایی از رایج ترین و سابقه‌دار ترین رابطه همزیستی در سلسله گیاهان است و یکی از مهمترین انواع میکوریزاها، میکوریزای آرباسکولار (AM) می‌باشد که از نظر کشاورزی اهمیت فوق‌العاده زیادی دارد و به عنوان یک نوع کود زیستی برای افزایش محصولات کشاورزی بااهمیت می‌باشد، زیرا ریشه اغلب گیاهان مرتعی، زراعی و باغی با میکوریزا همزیست هستند (شارما و جوهری، ۲۰۰۲؛ نوربخش و حاج عباسی، ۱۳۷۸) و در اکثر اکوسیستم‌ها وجود دارد به طوری که اکثر گیاهان (در حدود ۹۵ درصد گونه‌های گیاهان آوندی) لااقل یکی از تیپ‌های میکوریزا را دارا هستند (صالح راستین، ۱۳۷۷). همزیستی این قارچ ها با انواع گیاهان دارویی و معطر مشاهده شده و این همزیستی سبب افزایش و بهبود بازده در این گروه از گیاهان می شود (گوپتا و همکاران، ۲۰۰۲).

انواع همزیستی میکوریزا به دو دسته کلی اکتوتروفیک و اندوترفیک تقسیم می‌شود. در همزیستی اکتوتروفیک یا خارجی که در کاج‌ها و راش دیده می شود ریسه‌های قارچ به داخل سلول وارد نمی‌شوند بلکه در فضای بین سلول‌های پوست ریشه شبکه متراکمی به نام شبکه هارتیگ (*Hartig Net*) برای مبادله متابولیت‌ها با گیاه میزبان به وجود می آورد. ویژگی برجسته اکتومیکوریزا این است که هیف‌های قارچ پوشش غلاف مانندی روی سطح ریشه‌های فرعی جذب کننده مواد غذایی ایجاد می کند. در همزیستی اندوتروفیک یا داخلی که در اکثر گیاهان دیده می شود ریسه قارچ به داخل سلول میزبان نفوذ می کند ولی به پروتوپلاسم سلول حمله نمی کند. ویژگی برجسته اندو میکوریزا این است که ساختارهای قارچی از نوع ویزیکول و آرباسکول در درون و بین سلول‌های پوست ریشه ایجاد می شود (اسمیت و رید، ۱۹۹۷). آرباسکول ساختار منشعبی است که در منطقه

کورتکس ریشه دیده می شود و نقش آن افزایش سطح تماس ریسه با سلول به میران ۲ تا ۳ برابر است و سایت تبادل مواد مغذی محسوب می شود (درو و همکاران، ۲۰۰۶). استقرار میکوریزا در ریشه باعث تغییر فیزیولوژی گیاه می‌شود مانند تغییر در ترکیب عناصر در بافت‌های گیاهی، تعادل هورمونی و الگوی تخصیص منابع کربن، همچنین قارچ ترکیب ترشحات ریشه را تغییر می‌دهد و گسترش میسیلیوم‌ها در خاک به عنوان منبعی از کربن برای جوامع میکروبی خاک عمل می‌کند و باعث تغییر فیزیکی محیط خاک می‌شود (گریندر، ۲۰۰۰). همچنین کلونیزاسیون میکوریزا باعث تغییرات وسیع شاخص‌های مورفولوژیکی ریشه به ویژه افزایش شاخه‌دهی ریشه می‌شود (برتا و همکاران، ۲۰۰۲). قارچ‌های میکوریزا با داشتن شبکه هیفی گسترده و افزایش سطح و سرعت جذب ریشه باعث بهبود استقرار گیاه، افزایش جذب آب و عناصر غذایی مخصوصاً فسفر، روی، مس و نیتروژن (کلارک و زتو، ۲۰۰۰) و مقاومت گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده (باسکوت، ۲۰۰۵؛ اسمیت و رید، ۲۰۰۸) می‌شوند.

۲-۲-۱- تاریخچه تکاملی قارچ میکوریزا آرباسکولار

تاریخچه تکاملی گیاهان زمین دقیقاً با تکامل قارچ AM پیچیده شده است. اولین شواهد برای وجود گلومرومایست از اسپورها و هیف‌های مشاهده شده در فسیل‌های دوونین می‌آید، که قدمت برخی به ۴۶۰ میلیون سال پیش بر می گردد (ریدکر و همکاران، ۲۰۰۰). در این زمان، گیاهان زمین در مراحل اولیه تکاملی بودند (گنسل و همکاران، ۲۰۰۸). ساختارهایی مثل آرباسکول در فسیل‌های گیاهی از دوره دوونین (۴۰۰ میلیون سال پیش) حضور احتمالی تجمع AM را نشان می‌دهد (رمی و همکاران، ۱۹۹۴) و اگرچه در این زمان گیاهان هنوز از لحاظ ریشه تکامل نیافته بودند، همچنین وجود AM قدیمی تر از ریشه‌های واقعی است (رس- بنلسیک و کنراد، ۲۰۰۳).

۲-۲-۲- نقش همزیستی میکوریزا بر رشد گیاه میزبان

قارچ میکوریزا رشد گیاه و سازگاری به تنش‌های محیطی را افزایش می‌دهد (اینتری و همکاران، ۲۰۰۲؛ صالح الگارنی، ۲۰۰۶) و روی عملکرد گیاه اثر مثبتی دارد. از شاخص‌های مهم فعالیت قارچ-های میکوریزا، میزان کلونیزاسیون سیستم ریشه‌ای توسط این قارچ‌ها می‌باشد که به وسیله عوامل مختلفی از جمله خصوصیات ظاهری و ساختمانی سیستم ریشه‌ای، مقدار و کیفیت ترشحات ریشه‌ای، مصرف کودهای شیمیایی فسفر و غلظت های بالای عناصر سنگین تحت تأثیر قرار می‌گیرد (الکراکی و کلارک، ۱۹۹۸؛ گاویتو و میلر، ۱۹۹۸).

در یک آزمایش گلخانه‌ای با تلقیح دو گونه قارچ میکوریزای *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گوجه فرنگی افزایش یافت. همچنین بررسی روابط همبستگی بین خصوصیات اندازه‌گیری شده نشان داد که درصد کلونیزاسیون ریشه با درصد فسفر بخش هوایی همبستگی مثبت و معنی‌داری (P <۰/۰۱) داشت (علیزاده اسکوئی، ۱۳۸۰). در تحقیق دیگری تلقیح قارچ میکوریزای *Glomus intraradices* در ذرت علوفه‌ای (رقم سینگل کراس ۷۰۴) عملکرد ماده خشک (P <۰/۰۵) و درصد کلونیزاسیون ریشه (P <۰/۰۱) را افزایش داد (امیرآبادی و همکاران، ۱۳۸۸).

تلقیح با قارچ میکوریزا در گیاه دارویی رازیانه سبب افزایش معنی‌دار بیوماس و درصد همزیستی ریشه گردید، مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بین سطوح تلقیح میکوریزا تفاوت قابل توجهی وجود داشت به طوری که عملکرد بیولوژیک گیاه رازیانه در تلقیح با میکوریزا (۵۳۵۰ کیلوگرم در هکتار) در مقایسه با عدم تلقیح (۴۴۸۰ کیلوگرم در هکتار) در حدود ۱۹/۴ درصد بیشتر بود. در خصوص اثر همزیستی میکوریزایی بر روی عملکرد بیولوژیک رازیانه، می‌توان استنباط کرد که بهبود میزان فتوسنتز و رشد، موجب افزایش بیوماس بوته و در نهایت عملکرد بیولوژیک می‌گردد (درزی و همکاران، ۱۳۸۷).

ارتاس و هریس (۱۹۹۶) اظهار داشتند که استفاده از قارچ میکوریزا سرعت رشد گیاه را افزایش داده و بر تخصیص و انتقال عناصر غذایی بین ریشه و ساقه اثر گذاشته، به طوری که با افزایش جذب عناصر غذایی و انتقال آنها وزن خشک اندام هوایی افزایش یافت. الکراکی (۲۰۰۶) نیز گزارش کرد که تلقیح بذور گوجه فرنگی با *Glomus mosseae* باعث افزایش ماده خشک ریشه، اندام هوایی و همچنین غلظت فسفر، پتاسیم، آهن، روی و مس شد. همچنین سنزارو و همکاران (۲۰۰۶) اثر قارچ *Glomus intraradices* را بر نوعی عدس بررسی کردند، نتایج تحقیق آنها نشان داد که قارچ میکوریزا رشد گیاه را بهبود بخشیده بود. ثواقبی و همکاران (۱۳۸۹) نیز در بررسی روی گیاه گندم به این نتیجه رسیدند که در رقم سیستان با تلقیح *Glomus etunicatum* وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن هزار دانه و عملکرد دانه افزایش یافت و تلقیح با *Glomus intraradices* منجر به افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه شد.

تحقیقات نشان داد حضور میکوریزا گره‌زایی در بقولات را افزایش می‌دهد (جوهانسن و همکاران، ۲۰۰۴؛ ربیعی و المدینی، ۲۰۰۵). درگیاه نخود با تلقیح میکوریزای *Glomus mosseae* جذب فسفر، تعداد گره‌ها، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و فعالیت نیتروژناز افزایش یافت (گارگ و چندل، ۲۰۱۱). همچنین محققین نشان دادند که شاخص برداشت در گیاه نخود در صورت وجود میکروارگانیسم‌ها و میکوریزا بیشتر بود که این افزایش را ناشی از افزایش جذب فسفر و نیتروژن و افزایش فتوسنتز گیاه دانستند (جکوبسن، ۱۹۸۷).

۲-۲-۳- نقش همزیستی میکوریزا بر جذب عناصر غذایی

در همزیستی قارچ میکوریزای آرباسکولار (AM)، عناصر غذایی مانند فسفر، روی، مس و نیتروژن توسط هیف جذب و به ریشه گیاه منتقل می‌شود که سبب بهبود تغذیه و رشد گیاهان می‌شود (اسمیت و رید، ۲۰۰۸؛ پارنسیک، ۲۰۰۸). از آنجا که تأمین مواد مغذی یکی از محدودیت‌های رایج در رشد و تولید گیاهان در بسیاری از اکوسیستم‌ها بوده، استفاده از توانایی قارچ‌های هتروتروفیک AM

به منظور افزایش توانایی گیاهان در جذب آب و مواد غذایی سودمند می‌باشد (جونز و اسمیت، ۲۰۰۴؛ اسمیت و اسمیت، ۱۹۹۶). تحقیقات نشان داده که قارچ‌های میکوریزا قادرند مقدار بیشتری از نیتروژن را به گیاه انتقال دهند (گوویندراجلو و همکاران، ۲۰۰۵). قارچ میکوریزا جذب عناصری دیگری مانند سولفور، بور، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، سدیم، روی، مس، منگنز، آهن، آلومینیوم را نیز افزایش می‌دهد (کلارک و زتو، ۲۰۰۰) که این پدیده در محیط‌هایی که مواد معدنی مورد نیاز کم است، بسیار اهمیت دارد و به بقای گیاه کمک می‌کند. اثر قارچ میکوریزا روی این عناصر می‌تواند مثبت، خنثی یا منفی باشد که به نوع خاک، گیاه میزبان و دیگر عوامل بستگی دارد. در کالیفرنیای ایالات متحده آمریکا کاواگنارو و همکاران (۲۰۰۶) در گیاه گوجه فرنگی تلقیح میکوریزای جهش یافته و نوع وحشی آن را مقایسه کردند و دریافتند که میکوریزا اثر اندکی روی عملکرد داشت، اما غلظت روی را تا حدود ۲۴ درصد افزایش داد.

۲-۲-۴- نقش همزیستی میکوریزایی بر جذب فسفر توسط گیاه میزبان

اثرات مفید میکوریزا غالباً به افزایش جذب مواد غذایی کم تحرک، خصوصاً فسفر مرتبط است (بولان، ۱۹۹۱)، زیرا فسفر در خاک عنصری فوق‌العاده کم تحرک است. حتی در صورتی که فسفر به شکل محلول به خاک اضافه شود به سرعت در اشکال فسفات کلسیم یا دیگر اشکال تثبیت شده و به صورت غیر متحرک در می‌آید. لذا قارچ‌های میکوریزا در افزایش جذب مواد معدنی به ویژه فسفر و تجمع زیست توده بسیاری از محصولات در خاک‌های با فسفر کم، تأثیر مثبت دارند.

افزایش جذب فسفر به وسیله میکوریزا به دلیل افزایش فسفر قابل دسترس در خاک می‌باشد (بولان، ۱۹۹۱). میکوریزا از طریق افزایش سطح جذب و با کاهش ناحیه تخلیه از فسفر به وسیله هیف‌های خارجی، این عنصر را در اختیار گیاه قرار می‌دهد (پیترسو و مسیکوت، ۲۰۰۴؛ شنوی و کلگودی، ۲۰۰۵)، هیف‌های قارچ به دلیل قطر کم آنها نسبت به تارهای کشنده در منافذ ریزتری از خاک نفوذ می‌کنند (جکوبسن و همکاران، ۲۰۰۵). بنابراین جذب بیشتر فسفر در گیاهان میکوریزایی به دلیل

گسترش هیف‌ها (اسنف و همکاران، ۲۰۰۸) و توانایی رقابت آنها برای جذب فسفر (تیبت و سندرس، ۲۰۰۲؛ کاواگنرو و همکاران، ۲۰۰۵) می‌باشد.

همچنین حلالیت فسفر به وسیله رهایی اسیدهای آلی و آنزیم فسفاتاز انجام می‌شود (شنوی و کلگودی، ۲۰۰۵). هیف‌های قارچ میکوریزا موادی مانند اسید سیتریک ترشح می‌کنند که قادرند فسفر را از منابع غیر آلی به شکل قابل دسترس درآورند (تاواریا و همکاران، ۲۰۰۶). مکانیسم‌های غیر مستقیم شامل اثر میکوریزا بر روی ویژگی رایزوسفر مانند تغییر pH (لی و کرسی، ۲۰۰۱) و الگوی سیستم ریشه‌ای (لایورت و همکاران، ۱۹۹۰) می‌باشد. به هر حال توانایی میکوریزا برای افزایش حلالیت فسفر از منابع با حلالیت کم، بسیار مهم می‌باشد علاوه بر این با استفاده از میکوریزا می‌توانیم به کشاورزی ارگانیک کمک کنیم. ماکل (۲۰۰۳) بیان کرد جذب فسفر از سطح ریشه میکوریزی در اراضی ارگانیک نسبت به اراضی کشت رایج بیشتر بود.

قارچ‌های میکوریزا عنصر فسفر را در گیاهان افزایش می‌دهند مخصوصاً در شرایط کمبود فسفر (بارا و همکاران، ۲۰۰۸). برای مثال تاواریا و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که ترشحات هیف‌های قارچ، فسفر را بیشتر از ترشحات ریشه حل کرده و در اختیار گیاه قرار می‌دهد. در این زمینه مطالعات زیادی نشان داده‌اند که بین تراکم و طول هیف با جذب فسفر، بیوماس اندام هوایی گیاهان کلونیزه شده با میکوریزا همبستگی مثبت وجود دارد (جکوبسن و همکاران، ۲۰۰۱). در بعضی موارد افزایش هیف با رشد گیاه همبستگی مثبت ندارد (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۴) و در بعضی مواقع مخصوصاً در شرایطی که به زمین کود می‌دهیم میکوریزا نقش کمتری در بهبود جذب فسفر دارد (ریان و آنگوس، ۲۰۰۳؛ ریان و همکاران، ۲۰۰۵).

در گیاه گندم تلقیح میکوریزا باعث شد که جذب فسفر به طور معنی‌داری افزایش پیدا کند (فارودی، ۲۰۱۰). رئیسی و قول لرعطا (۲۰۰۶) اثر تلقیح میکوریزای *Glomus intraradices* را بر جذب فسفر در گیاه شبدر برسیم بررسی کردند و آنها به این نتیجه رسیدند که جذب این عنصر به

طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت. در تحقیق دیگری غلظت فسفر در اندام‌های هوایی گیاه سورگوم در اثر تلقیح با قارچ میکوریزا افزایش یافته بود (ویدادا و همکاران، ۲۰۰۷) ولی در ریشه غلظت فسفر نسبت به شاهد کاهش یافته بود. همچنین نتایج تحقیق حاجی بلند و همکاران (۲۰۰۹) بر روی گیاه برنج نشان داد که تلقیح میکوریزا به طور معنی‌داری جذب فسفر را افزایش داد.

۲-۲-۵- نقش همزیستی میکوریزا در تحمل گیاهان در برابر تنش های زنده و غیر زنده

تنش‌های غیرزنده باعث خسارات گسترده‌ای به تولیدات کشاورزی می‌شود. تخلیه مواد معدنی، خشکی، شوری، فلزات سنگین یا گرما مشکلات مهمی در بسیاری از نقاط دنیا، به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک هستند. پتانسیل AM در افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش غیر زنده در مدت زمان طولانی شناخته شده است (اسمیت و رید، ۲۰۰۸) و دستکاری آن‌ها در سیستم‌های کشاورزی پایدار از اهمیت فوق العاده‌ای برای کیفیت خاک و تولیدات زراعی تحت شرایط سخت خواهد بود (لال، ۲۰۰۹). مطالعات اخیر نشان می‌دهد، همکاری میکروارگانیسم‌های مفید خاک و قارچ میکوریزا باعث بهبود تحمل گیاه زراعی در برابر شرایط تنش غیر زنده و رشد گیاه تحت تنش خشکی می‌شود (مارولندا-آگیور و همکاران، ۲۰۰۸؛ مارولندا و بارآ، ۲۰۰۹). گزارش شده است که کلونی شدن میکوریزا در شرایط تنش کم آبی موجب افزایش جذب مواد غذایی شده (باس و ایلیس، ۱۹۸۵) و از این طریق سبب افزایش کارایی مصرف آب و افزایش هدایت هیدرولیکی در ریشه گیاه می‌شود (گراهام و سیورسن، ۱۹۸۴). قارچ‌های میکوریزی توانایی دفع عناصر سنگین و یون‌های سمی (هگو و همکاران، ۱۹۹۰)، تولید مواد محرک رشد، برقراری رابطه متقابل مثبت با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (طباطبایی و همکاران، ۱۹۹۲) و حل کننده‌های فسفات (لی و بجیاراج، ۱۹۸۶)، افزایش مقاومت گیاه میزبان به شوری (پوند و همکاران، ۱۹۸۴)، خشکی (سانجز-دیاز هونرابیا، ۱۹۹۴) را داشته و به بقاء و رشد گیاه میزبان در شرایط نا مساعد محیطی کمک می‌کند.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند، تأثیر مفید قارچ AM در افزایش تحمل گیاه به تنش زنده ناشی از تعامل پاتوژن‌های منتقله از خاک با خیلی از گونه‌های گیاهی می‌باشند، همواره این برای بسیاری از قارچ‌ها نظیر فوزاریوم، فیتوفتورا، ورتیسلیوم، فیتوم و برخی از نماتدها نیز نشان داده شده است (هریر و راتسون، ۲۰۰۴؛ ویپس، ۲۰۰۴؛ هااو و همکاران، ۲۰۰۹). تغییر در ترشحات ریشه گیاهان آلوده به AM می تواند سبب تغییر در جذب نماتدهای بیماری‌زا به طرف ریشه‌ها شود. همچنین قادر است بنیه گیاه میزبان را افزایش داده و در جلوگیری از کاهش آلودگی به نماتد موثر باشد.

۲-۳- فراصوت (*Ultrasound*)

به امواج صوتی گفته می‌شود که دارای فرکانسی بیشتر از بازه فرکانسی شنوایی انسان هستند. بازه فرکانسی شنوایی افراد متفاوت است و با بالا رفتن سن این بازه کاهش می‌یابد، ولی معمولا بالاترین فرکانس شنوایی انسان حدود ۲۵-۲۰ کیلوهرتز در نظر گرفته می‌شود (جامبارک و همکاران، ۲۰۰۸). نقطه مقابل این امواج، امواج فروصوت یا مادون صوت هستند که دارای فرکانس زیر حد پایین فرکانس شنوایی انسان حدود ۲۰ هرتز هستند (جامبارک و همکاران، ۲۰۰۸).

۲-۳-۱- آزمون فراصوت

آزمون فراصوت یکی از آزمون‌های غیر مخرب است. در این روش امواج فراصوت با فرکانس بالا و با دامنه کم به داخل جسم فرستاده می‌شوند. این امواج پس از برخورد به هر گسستگی بازتابیده می‌شوند. از روی دامنه و زمان بازگشت این امواج می‌توان به مشخصه‌های این گسستگی پی برد. از کاربردهای این روش می‌توان به اندازه گیری ضخامت و تشخیص عیوب موجود در اجسام نام برد. یکی از امتیازات مهم این روش توانایی آن در تشخیص عیوب بسیار کوچک به علت فرکانس بالای این امواج و در نتیجه طول موج بسیار کوچک آن‌ها است.

۲-۳-۲- کاربرد امواج فراصوت در صنایع غذایی

التراسونیک در صنایع غذایی از سال ۱۹۷۰ مورد استفاده قرار گرفته است (پووی و ویلکینسون،۱۹۸۰). امواج فراصوت به عنوان یک فناوری پیشرفته، کاربردهای زیادی در علوم و صنایع مختلف، از جمله صنایع غذایی پیدا کرده است. به طوری که از آن هم برای تشخیص و اندازه گیری و هم به عنوان کمک فرایند با سایر فرایندهای مواد غذایی استفاده می‌شود.

محدوده استفاده از فراصوت در صنایع غذایی به دو دامنه تقسیم می‌شود:

۱- فرکانس بالا و انرژی پایین که در محدوده MHz می‌باشد.

۲- فرکانس پایین و انرژی بالا در محدوده KHz می‌باشد.

محدوده پایین به طور کلی به دلیل ایجاد پدیده حفرگی یا تشکیل حباب‌های بسیار ریزی است که تحت اثر انقباض و انبساط به صورت لحظه‌ای و نقطه‌ای حرارت و فشار فوق العاده زیاد در محیط مایع ایجاد می‌شوند. بدین صورت که در زمانی به اندازه یک هزارم ثانیه دما تا ۵۵۰۰ درجه سانتی گراد و نیز فشار تا ۵×۱۰^{۴} کیلو پاسکال افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که این اثر انقباض و انبساط در محیط مایع به صورت پریودی تکرار می‌شود. این وضعیت باعث اثرات فیزیکی و شیمیایی بر ملکول های مجاور می شود. اثرات مکانیکی و شیمیایی پدیده حفرگی بسیار مهم است و کاربردهای آن نیز وسیع است (کاپلند و ساجین، ۲۰۰۳؛ سالا و بارگاس، ۱۹۹۶؛ کیستی، ۲۰۰۲؛ بریتباک و همکاران، ۲۰۰۲).

همچنین نشان داده شده است که امواج فراصوت سبب تخریب و افزایش قابلیت نفوذ سلول‌های گیاهی و جانوری شده و ضمن افزایش نفوذ حرارت و خروج رطوبت، باعث کاهش زمان خشک کردن مواد غذایی می‌شود. امواج فراصوت با مکانیسم‌های مختلف ممکن است منجر به افزایش میزان خروج رطوبت از ماده غذایی در طی فرایند خشک کردن یا سایر عملیات واحد، مستلزم انتقال جرم شوند که

از جمله آن‌ها می‌توان به افزایش دما در لایه مرزی، تغییر فشار در اثر کاویتاسیون، توسعه میکرو کانال‌ها در اثر ایجاد ترک در نتیجه تنش برشی حاصل از کاویتاسیون، اغتشاش در لایه مرزی و ایجاد تغییرات ساختمانی در محیط اشاره کرد (گالگو و همکاران، ۲۰۰۳؛ شافیر رحمان، ۲۰۰۰).

تنش متغیر صوتی از طریق حفظ کانال‌های موجود یا ایجاد کانال‌های جدید سبب تسهیل خشک کردن می شود. همچنین امواج فراصوت، گرادیان فشار را در سطح گاز-مایع تحت تاثیر قرار می‌دهد و سبب تشدید تبخیر می‌شود. جنبش مولکولی در لایه مرزی که ناشی از متلاشی شدن حباب‌ها طی پدیده حفرگی است، ضمن کاهش ضخامت و افزایش دما، اختلاط بهتر را میسر می‌کند (کیستی، ۲۰۰۲).

امواج فراصوت برای فرایند خشک کردن انگور به منظور حذف قلیا و تهیه کشمش استفاده می-شود و امکان جایگزینی این فناوری به جای روش‌های سنتی وجود دارد (مسکوکی و همکاران، ۱۳۸۶). می‌توان از امواج فراصوت در درجه بندی میوه‌ها و سبزیجات از نظر رسیدگی نیز استفاده نمود (میزارچ و همکاران، ۱۹۹۶).

۲-۳-۳- کاربردهای امواج فراصوت در کشاورزی

امواج فراصوت کاربردهای فراوانی دارد، به طوری که نه تنها در تیمارهای بذر و کاهش و حذف آفات و بیماری‌ها کاربرد دارد، بلکه این امواج در مهندسی ژنتیک و انتقال ژن نیز کاربرد دارد. افزایش تقاضای روز افزون مصرف کنندگان برای استفاده از محصولات با کیفیت منجر به استفاده از تکنولوژی‌های جدید شده است. کیفیت محصول عمدتاً شامل ارزش غذایی، ترکیبات شیمیایی، خواص مکانیکی و عدم وجود نقص می باشد که هر یک به عنوان موضوعی برای بسیاری از مطالعات مد نظر قرار گرفته است. فناوری استفاده از امواج فراصوت یکی از روش‌های صوتی استفاده شده در کشاورزی به خصوص در ارزیابی کیفیت و عملکرد محصولات زراعی است.

۲-۳-۴- ضرورت استفاده از فراصوت در کشاورزی

۱. استفاده از تکنولوژی‌های جدید غیر مخرب مانند الترسونیک ضروری است.
۲. الترسونیک به ارزش غذایی و ترکیبات شیمیایی آسیبی نمی رساند.
۳. ارزیابی کیفیت محصول و افزایش عملکرد محصولات زراعی
۴. امواج فراصوت در تیمارهای بذر وکاهش وحذف آفات و بیماری‌ها کاربرد دارد.
۵. اندازه‌گیری و تشخیص عیوب فیزیکی بسیار کوچک (ترک‌های میکرسکوپی) موجود در بذور.

۲-۳-۵- اثرات اصلی امواج فراصوت

۱. ایجاد پدیده حفرگی یا تشکیل حباب‌های بسیار ریز است.
۲. اثر انقباض و انبساط به صورت لحظه‌ای و نقطه‌ای.
۳. حرارت و فشار فوق العاده زیاد درمحیط مایع ایجاد می‌شوند.
۴. امواج فراصوت، گرادیان فشار را در سطح گاز-مایع تحت تاثیر قرار می‌دهد.
۵. تیمار التراسونیک با تولید حباب‌هایی در داخل مایعات ایجاد نقاط داغ کرده و باعث افزایش انتقال گرما و انهدام میکروارگانیسم‌ها می‌شود (ایشیموری و همکاران، ۱۹۸۱؛ ساسلیک، ۱۹۹۰).

دو پارامتر مهمی که در رابطه با امواج فراصوتی بوده و برای اندازه گیری خواص محصولات کشاورزی دارای اهمیت فراوانی می باشد، سرعت موج فراصوت و ضریب تضعیف آن است. سرعت امواج فراصوت (V) از طریق اندازه گیری زمان مورد نیاز (T) برای عبور موج فراصوت از ضخامت مشخص مواد (L) مطابق رابطه ۱ تعیین گردید:

رابطه (۱) $$V = \frac{L}{T}$$

با داشتن دامنه‌ی موج فراصوت فرستاده شده (A) و دریافت شده (A0) و همچنین فاصله بین پروب‌ها (L)، ضریب تضعیف امواج فراصوت (α) مطابق رابطه ۲ قابل محاسبه است (ذکی دیزجی و همکاران، ۱۳۸۷).

رابطه (۲) $$a_{dB} = \frac{-20}{L}\log(\frac{A}{A_0})$$

موج فراصوت فرستاده شده و گرفته شده، پس از پردازش در واحد پردازش سیگنال، برای نمایش به نرم افزار Oscilloscope TNM انتقال داده می‌شود.

۲-۳-۶- سابقه و ضرورت انجام تحقیق بر فراصوت

پژوهش‌هایی درباره استخراج آنتوسیانین از میوه‌ها و بررسی پایداری آن در شرایط مختلف بوسیله امواج فراصوت انجام شده است (مسکوکی و مرتضوی، ۱۳۸۰). همچنین در عصاره گیری با امواج فراصوت هیچ گونه تغییر شیمیایی که سبب افت احتمالی ترکیبات شیمیایی آنتوسیانین تمشک قرمز شود وجود ندارد (چن و همکاران، ۲۰۰۶). علاوه بر آنتوسیانین‌ها، ترکیبات دیگری مثل پلی فنل ها، پلی ساکاریدها، ترکیبات آروماتیک و سایر رنگدانه‌ها را با استفاده از امواج فراصوت در مدت زمانی کوتاه با کارایی بالا می‌توان استخراج نمود (ویلخو و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش ضریب تضعیف امواج فراصوتی عبور کرده از میان بافت هندوانه با میزان رسیدگی آن گزارش شده است (کلارک و شاکلفورد، ۱۹۷۵). می توان از تغییرات سرعت موج فراصوت در میوه‌ها و سبزی‌ها، جهت درجه بندی رسیدگی آن‌ها استفاده نمود (میزارچ و همکاران، ۱۹۹۶). استفاده از امواج فراصوت به عنوان یک روش اقتصادی در افزایش بهره وری و کاهش زمان خشک کردن انگور در تهیه کشمش موثر است (مسکوکی و همکاران، ۱۳۸۶). امواج التراسونیک در مالت سازی برای افزایش میزان فعالیت آنزیم مربوطه موثر است (کریسوستو، ۱۹۹۶؛ اسکمیدت و همکاران، ۱۹۸۷). تیمار التراسونیک باعث تغییر فعالیت آنزیم‌ها می‌شود (بارتون و همکاران، ۱۹۹۶). تیمار الترسونیک با تولید حباب‌هایی در داخل مایعات ایجاد نقاط داغ کرده و بدین ترتیب باعث افزایش انتقال گرما و انهدام میکروارگانیسم‌ها می-

شود (ایشیموری و همکاران، ۱۹۸۱؛ ساسلیک، ۱۹۹۰). آلفاآمیلاز در جو چه به صورت تثبیت شده و یا به صورت آزاد نه تنها در معرض تابش امواج فراصوت غیر فعال نشده بلکه فعال‌تر هم می شود (اسمیت و همکاران، ۱۹۸۷). در تحقیقی دیگر که روی بذور بادنجان، فلفل و خیار نشان داده شد که از لحاظ رشد تیمار بذور با امواج فراصوت ۴۲ الی ۵۹ کیلوهرتز، برتری بسیار بالای نسبت به تیمار شاهد دارد (بینا و رضایی، ۱۳۸۷).

۲-۳-۷- اثرات مخرب امواج فراصوت بر روی آنزیم ها در شدت بالای پرتودهی

اثرات امواج فراصوت بر روی آنزیم‌ها اغلب با چندین فرآیند مکانیکی و سونوشیمیایی مرتبط است که به وسیله پدیده حفرگی ایجاد می‌شود. در شدت‌های بالای پرتودهی امواج فراصوت میکروجت‌های مایع تولید شده به وسیله فروپاشی متقارن حباب‌های حفرگی، تنش‌های برشی در مایع پرتودهی شده و میکروجریان‌هایی که معلول حباب‌های نوسان کننده پایدار می باشند قادر به رساندن آسیب مکانیکی به تمامیت ساختمان پروتئین می باشند و باعث افت فعالیت آنزیم می شوند. مکانیسم دیگری که در طی آن آنزیم‌های صوت دهی شده غیر فعال می‌شوند به واسطه نغییر و تحول و یا آسیب ساختار آنزیم می‌باشد. رادیکال‌های آزاد که ذراتی با الکترون‌های جفت نشده و با فعالیت واکنش پذیری خیلی بالا هستند، توزیع بار بر روی سطح پروتئین را تغییر داده و باعث رساندن آسیب جدی به ناحیه فعال آنزیم شده بنابراین میل ترکیبی آنزیم با سوبسترا را از بین می‌برند.

طبق فرآیندهای فوق گرادیان‌های فشار بالای بوجود آمده توسط امواج فراصوت در درون مایع باعث پارگی و تکه تکه شدن مولکول‌های پروتئین و تغییر شکل ساختار آن می‌شوند، در حالی که گرادیان‌های دمای بالا منجر به غیر فعال سازی گرمایی یا پرولیز پیوندهای آن می شوند (اثرات میکانیکی صوت) و طبق مکانیسم اثرات سونوشیمیایی صوت، هر حباب حفرگی تولید شده به وسیله امواج فراصوت به منزله میکرواکتور کوچکی عمل می کند که تولید نقاط داغ موضعی نموده و دما و

فشار در داخل این حباب‌ها به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد (ساسلیک، ۱۹۹۰). این دماها و فشارهای بالا ساختار فعال آنزیم را غیر فعال می نماید. اثرات سینرژیستی امواج فراصوت و گرما بر روی آنزیم‌ها در دماهای بالا مسجل شده است (لوپز و همکاران، ۱۹۹۷) و این احتمالا به دلیل افزایش فشار بخار مایع در اطراف حباب‌های حفرگی می باشد که منجر به کاهش فروپاشی حباب‌ها شده و باعث می شود که فروپاشی حباب‌ها کمتر صورت بگیرد (ساسلیک، ۱۹۸۸). ضمناً اثر امواج فراصوت بر روی آنزیم‌ها مشابه اثر آن بر آنزیم پکتین متیل است.

گزارش‌های مربوط به افزایش فعالیت آنزیم‌های آزاد در محیط آزمایشگاه در حضور امواج فراصوت محدود می باشد. به طور غیر قابل انتظار در شدت‌های پرتودهی پایین، بعضی از آنزیم‌ها مانند گلوکوآمیلاز و آلفا آمیلاز تثبیت شده در خلل و فرج سلیکاژل و یا به صورت آزاد نه تنها در معرض تابش امواج فراصوت غیر فعال نشده بلکه فعال‌تر هم می‌شوند (اسکمیدت و همکاران، ۱۹۸۷). از این رو میزان فعالیت التراسونیک نقش مهمی در فعال سازی یا غیر فعال سازی بیشتر آنزیم‌ها دارد. گزارش‌های زیادی توسط محققان مختلف در مورد افزایش فعالیت آنزیم‌های آزاد تحت شرایط تابش ملایم امواج فراصوت منتشر شده است که از جمله به افزایش فعالیت آلفا کیموتریپسین بر روی کازیین در شدت‌های پایین، و از طرف دیگر کاهش فعالیت این آنزیم در شدت‌های بالا می توان اشاره کرد (ایشیموری و همکاران، ۱۹۸۱). فعالیت آنزیم‌ها به عنوان کلید واکنش‌های بیوشیمیایی با تنظیم خوب پرتو افکنی فراصوت افزایش می یابد (بارتون و همکاران، ۱۹۹۶؛ ایشیموری و همکاران، ۱۹۸۱).

مؤثر بودن امواج فراصوت بر روی میزان غیر فعال سازی آنزیم نشان داد که با افزایش شدت صوت میزان فعالیت آنزیم کاهش می یابد از آنجا که فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در حرارت ۳۰ درجه از بین نمی رود، کاهش فعالیت آنزیم و در نتیجه کاهش میزان جذب صرفاً به واسطه اثرات امواج فراصوت می باشد. غیر فعال سازی آنزیم آلفا آمیلاز جو باعث تولید رادیکال‌های آزاد و نیروهای برشی می شود که در نتیجه باعث تغییر و تحول و آسیب بیشتر به ساختار آلفا آمیلاز می شود و در نهایت منجر به غیر فعال سازی بیشتر خواهد شد.

فصل سوم

مواد و روش‌ها

۳-۱- مشخصات محل آزمایش

این آزمایش در خرداد ماه ۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود با عرض جغرافیای ۳۶/۲۵ درجه و طول جغرافیایی ۵۴/۵۷ درجه و ارتفاع ۱۳۴۵ متر از سطح دریا انجام گرفت. مشخصات اقلیمی منطقه در جدول ۳-۱ ارائه شده است.

جدول ۳-۱- مشخصات اقلیمی و جغرافیایی شهرستان شاهرود

مشخصات جغرافیایی		مشخصات اقلیمی	
نوع اقلیم	گرم خشک	میانگین بارندگی mm	۱۵۶/۵
ارتفاع از سطح دریا	۱۳۴۵	تبخیر mm	۲۰۶۸/۱
طول جغرافیایی	۵۴/۵۷	میانگین درجه حرارت	۱۶/۰۶
عرض جغرافیایی	۳۶/۲۵	حداکثر مطلق	۳۹
نوع خاک	سندی لوم	حداقل مطلق	-۷/۶
		تعداد ساعات آفتابی	۲۹۴۷/ ۵

۳-۲- شرایط آب و هوایی محل اجرای آزمایش

مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود در ۷ کیلومتری این شهر و در نزدیکی بسطام واقع است. از نظر اقلیمی جزء مناطق سرد و خشک است و دارای زمستانی سرد می‌باشد. در زمستان برودت هوا به ۱۴- درجه سانتی‌گراد زیر صفر و گرمای هوا نیز در تابستان تا ۴۲ درجه بالای صفر

می‌رسد. بر اساس اطلاعات ثبت شده در ایستگاه هواشناسی بسطام میانگین سالانه دما در این منطقه ۱۴/۴ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارندگی سالیانه ۱۶۰ میلی‌متر گزارش شده است.

۳-۳- مشخصات خاک مزرعه

به منظور تعین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، قبل از عملیات اجرایی طرح از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه برداری شد و مورد تجزیه قرار گرفت که نتایج حاصله در جدول ۳-۳ نشان داده شده است. مطابق اطلاعات به دست آمده بافت خاک شنی لومی تعیین گردید.

جدول ۳-۲- خصوصیات خاک مزرعه

رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	ازت کل (%)	کربن آلی (%)	هدایت الکتریکی (dS/m)	pH
۱۱	۳۴	۵۵	۱۷۷	۴/۸۹	۰/۰۲۴	۰/۳۵	۷/۵۶	۷/۹۱

۴-۳- مشخصات طرح آزمایش

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح قارچ میکوریزا گونه *Glomus mosseae* {عدم تلقیح (شاهد، M1)، تلقیح به میزان توصیه شده (M2) و تلقیح به میزان دو برابر مقدار توصیه شده (M3)} و پنج سطح امواج التراسونیک {صفر (شاهد،F1)، ۳ (F2)، ۵ (F3)، ۷ (F4) و ۹ (F5) دقیقه در معرض تابش امواج با فرکانس ۴۲ کیلو هرتز} می‌باشد. نقشه کاشت در جدول ۳-۳ آمده است.

جدول ۳-۳- نقشه کاشت

تکرار I	M3 F3	M3 F4	M1 F5	M3 F2	M2 F5	M1 F2	M1 F3	M3 F5	M1 F1	M2 F1	M2 F3	M2 F2	M2 F4	M3 F1	M1 F4
تکرار I I	M3 F1	M1 F3	M2 F3	M2 F2	M3 F3	M1 F1	M2 F1	M1 F4	M3 F5	M1 F2	M2 F4	M1 F5	M2 F5	M3 F2	M3 F4
تکرار I I I	M3 F1	M2 F2	M3 F5	M2 F3	M3 F4	M1 F4	M1 F5	M2 F5	M3 F2	M1 F2	M2 F4	M1 F1	M3 F3	M1 F3	M2 F1

۳-۵- مشخصات کرت‌ها

طول هر کرت ۴ متر و عرض ۲/۵ متر در نظر گرفته شده بودند که مساحت آن به ۱۰ متر مربع رسید. در هر کرت ۴ ردیف کشت قرار داشت که فواصل بین ردیف‌های کشت ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. فاصله بین کرت‌ها ۱۰۰ سانتی‌متر بود.

۳-۶- آماده سازی زمین و کوددهی

عملیات آماده سازی زمین با مساعد شدن شرایط آب و هوایی و گاورو شدن زمین در اوایل خرداد ماه ۱۳۸۹ صورت گرفت. در ابتدا زمین مورد نظر توسط گاوآهن برگرداندار شخم زده شد. سپس اقدام به عمل تسطیح زمین گردید. در پایان به وسیله فاروئر، جوی و پشته‌هایی به فاصله ۵۰ سانتی‌متر در جهت شمال به جنوب ایجاد گردید و سپس جوی‌های آبیاری تعبیه شدند و در نهایت نقشه طرح پیاده گردید.

۳-۷- پرتودهی بذور سیاه‌دانه

دانه‌های سیاه‌دانه بعد از ۶ ساعت هیدروپرایمینگ نمودن در شرایط آزمایشگاه، به آزمایشگاه فیزیک انتقال داده و در آنجا در یک بشر حاوی آب معمولی به روش مستقیم و با استفاده از دستگاه

فراصوت در فرکانس ثابت ۴۲ کیلو هرتز در دستگاه Digital ultrasonic مدل ۴۸۲۰- CD پرتودهی شدند. بعد از صوت دهی مستقیما به مزرعه جهت کاشت منتقل شدند.

۳-۸- کاشت بذر سیاه‌دانه

بذور استفاده شده توده محلی سیاه‌دانه بود که از منطقه بسطام تهیه گردید. قبل از کاشت تست جوانه زنی بذور انجام شد و دارای ۹۲ درصد قوه نامیه بودند. سپس در ۸ خرداد کاشت بذر با دست صورت گرفت. در زمان کاشت برای اعمال تیمارهای آزمایش در هر ردیف شیاری در سراسر پشته به عمق ۲-۱ سانتی‌متر ایجاد گردید و سپس مایه تلقیح قارچی بر اساس تیمارهای آزمایشی که حاوی خاک، بقایای ریشه‌ای و اندام‌های قارچی بود به صورت کپه‌هایی با فاصله ۱۰ سانتی‌متر از یکدیگر در شیار قرار گرفت و روی آن با کمی خاک پوشانیده شد و کمی پایین تر از آن تعداد ۵-۴ عدد بذرسیاه‌دانه به منظور اطمینان از سبز کردن بذور قرار داده شدند و سپس روی آنها با خاک پوشانده شد.

۳-۹- عملیات داشت

عملیات داشت در طی تمام مراحل رشد گیاه به صورت مداوم انجام پذیرفت و نمونه برداری نیز همزمان با آن صورت می گرفت.

۳-۹-۱- مبارزه با علف‌های هرز و دفع آفات

عملیات وجین علف هرز، در ابتدای رشد و جوانه زنی تا استقرار کامل گیاهچه امری ضروری است. به این منظور طی ۸ مرحله به مدت هر ۶ تا ۷ روز یکبار از ابتدای کاشت تا زمان استقرار کامل بوته‌ها وجین دستی روی ردیف‌ها و بین ردیف‌ها انجام شد. علف‌های هرز غالب در مزرعه آزمایشی در مراحل مختلف، شامل خارشتر (*Alhagi camelorum*)، پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis*) و تاجریزی سیاه (*Solanum nigrum*) بودند. به دلیل عدم وجود آفات و بیماری‌های خاصی برای این

گیاه دارویی و در نظر گرفتن تأثیر پذیری منفی ماده موثره گیاه بر اثر استعمال سموم شیمیایی از هیچگونه سم حشره کش، علف کش و قارچ کش در کرت‌های مورد نظر استفاده نشد.

۳-۹-۲- آبیاری و تنک

پس از کاشت و به منظور سهولت در امر سبز شدن بذرها، اولین آبیاری در تاریخ ۸ خرداد ۱۳۹۱ انجام شد. آبیاری‌های بعدی نیز تا سبز شدن کامل گیاهچه ها با فاصله ۴ روز و از آن پس به صورت هفتگی انجام شد. یک ماه پس از کاشت، پس از اطمینان کامل از استقرار بوته‌ها، عمل تنک کاری بوته‌ها به صورت دستی انجام شد.

۳-۱۰- برداشت

هنگامی که برگ‌ها و ساقه‌ها زرد و کپسول‌های گیاهان به سمت زرد مایل به قهوه‌ای شدند یا به عبارتی محصول رسید، برای نمونه برداری و اندازه گیری فاکتورهای مورد نظر از ۴ خط کاشت موجود در کرت پس از حذف یک ردیف از دو طرف کرت و ۵۰ سانتی متر از هریک از دو انتهای ردیف‌های میانی هر کرت آزمایش به عنوان اثرات حاشیه، گیاهان موجود در یک متر مربع نمونه برداری و قطع شدند. برداشت گیاهان در ۲۱ مهر ماه ۱۳۹۱ انجام گرفت. نمونه‌ها به محض برداشت به منظور جلوگیری از ریزش بذور گیاهان در پاکت‌های شماره گذاری شده قرار داده شدند و سریعاً به آزمایشگاه انتقال یافتند. در آزمایشگاه بعد از اندازه گیری ارتفاع بوته و به منظور تعیین وزن خشک بوته‌ها، نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و سپس با ترازوی دیجیتال توزین گردیدند.

۳-۱۱- صفات اندازه گیری شده و روش اندازه گیری

در این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف میکوریزا و امواج فراصوت، صفاتی از قبیل ارتفاع و تعداد کپسول در گیاه، تعداد دانه در کپسول، وزن هزار دانه در گیاه، عملکرد بذر، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک، درصد کلونیزاسیون ریشه، درصد اسانس، عملکرد اسانس و درصد روغن دانه اندازه گیری و محاسبه شد.

ارتفاع ساقه بعد از برداشت نهایی اندازه گیری و میانگین ۳ نمونه برداشت شده از هر کرت به عنوان ارتفاع و طول نهایی گزارش شد. تعداد کپسول‌ها و تعداد بذر در کپسول شمارش و سپس میانگین نمونه‌ها گزارش شد. برای محاسبه عملکرد بیولوژیک در واحد سطح، وزن خشک کلیه بوته‌ها در واحد سطح پس از برداشت محاسبه گردید. همچنین برای محاسبه عملکرد دانه، پس از جداکردن کاه وکلش و بوجاری بذور عملکرد دانه در واحد سطح بدست آمد.

۳-۱۱-۱- تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه‌ها

جهت تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه از نمونه های تهیه شده از ریشه‌ها (ریشه مویی) که در داخل محلول (۵۰ درصد آب مقطر و ۵۰ درصد الکل سفید) نگهداری شده بود، استفاده شد. جهت رنگ آمیزی ریشه‌ها در محیط آزمایشگاه از روش تغییریافته فیلیپس و هیمن (۱۹۷۰) استفاده گردید. پس از شستشوی کامل ریشه‌ها با آب جهت رنگبری، ریشه‌ها به داخل شیشه های حاوی KOH ده درصد منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس ۳ الی ۴ بار با آب مقطر کاملاً شسته شدند و جهت خنثی کردن محیط قلیایی به مدت دو دقیقه در محلول HCl یک دهم نرمال قرار گرفتند. سپس ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلولی با فرمولاسیون ۰/۶۵ گرم پودر تریپان بلو در ۳۲۵ میلی لیتر اسید لاکتیک، ۳۰۰ میلی لیتر گلیسرین و ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفتند. به منظور تعیین درصد همزیستی ریشه ۲۵ قطعه یک سانتی‌متری از نمونه‌ها بریده شد و زیر

میکروسکوپ با بزرگنمایی ۲۰۰ وجود هر یک از اندام‌های قارچ (ویزیکول، آرباسکول و هیف) مورد بررسی قرار گرفت و در صورت وجود به عنوان چهار درصد حساب شد.

۳-۱۱-۲- استخراج اسانس

به منظور استخراج اسانس، از روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر Clevenger استفاده گردید. بدین منظور نمونه‌های ۳۰ گرمی از پودر بذرهای خشک شده هر کرت (بازده روغن اسانس با خرد کردن بذر افزایش می‌یابد) به همراه ۳۰۰ میلی لیتر آب در بالن دستگاه قرار گرفت و ۳ ساعت حرارت داده شد و در انتها اسانس از آب جدا گردید. بعد از تعیین درصد اسانس، عملکرد اسانس محاسبه گردید.

۳-۱۱-۳- روغن گیری بذر

درصد روغن دانه در آزمایشگاه میکروشیمی دامغان با استفاده از دستگاه سوکسله تعیین گردید. استخراج روغن از ۲ گرم پودر بذر هر تیمار و به کمک حلال پترولیوم اتر صورت گرفت.

۳-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش برای تجزیه داده‌ها از نرم افزارهای SAS و MSTAT-C و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد. برای رسم نمودارهای حاصل از اطلاعات تحقیق از نرم افزار Excel استفاده شد.

فصل چهارم

نتایج و بحث

۴-۱- ارتفاع ساقه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از آن است که سطوح مختلف امواج التراسونیک به طور معنی داری (سطح احتمال ۱٪) ارتفاع ساقه را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۴-۱). به طوری که تیمار ۷ و ۵ دقیقه فراصوت بیشترین ارتفاع بوته را حاصل نمودند و ارتفاع بوته را به ترتیب ۱۸/۶ و ۱۶/۱ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. همانطور که مشاهده می‌شود تیمارهای ۳ و ۹ دقیقه فراصوت تفاوت معنی داری با شاهد ندارند (جدول ۴-۲). شیمومورا (۱۹۹۰) در آزمایشی با امواج فراصوت با شدت ۷۰۰ KHz بذر تربچه را تیمار کرد که باعث افزایش سرعت جوانه زنی و افزایش ۱۳ الی ۱۶ درصدی طول ریشه چه نسبت به شاهد گردید.

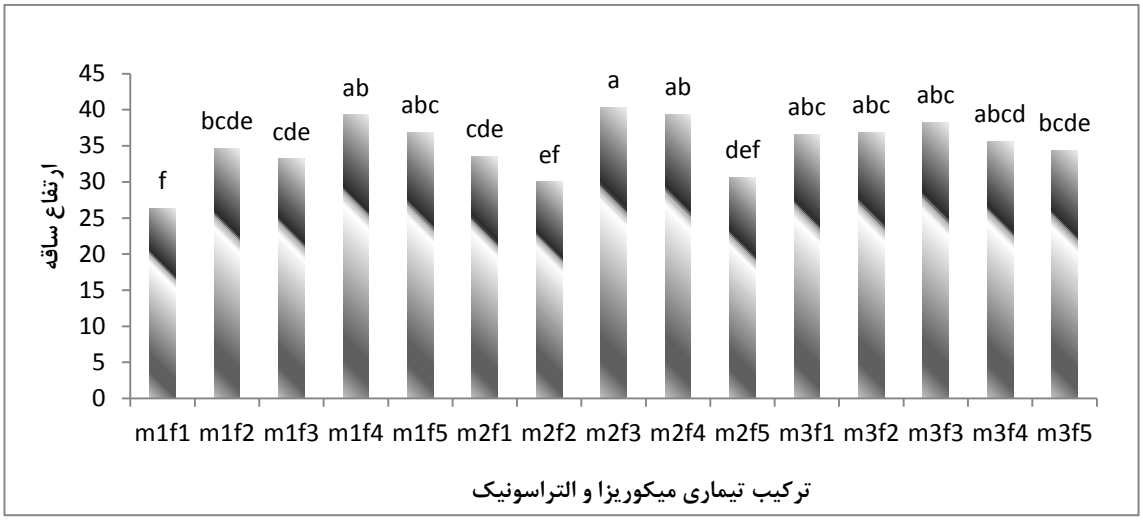
اثر متقابل تلقیح باکتری و التراسونیک نیز در سطح احتمال ۱ درصد بر ارتفاع ساقه معنی‌دار بود (جدول ۴-۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین ارتفاع ساقه (۴۰/۳ سانتی‌متر) در تیمار تلقیح توصیه شده قارچ همراه با ۵ دقیقه موج التراسونیک و کمترین ارتفاع بوته (۲۶/۳ سانتی‌متر) در تیمار شاهد حاصل شد. این تیمار سبب شد تا ارتفاع بوته در مقایسه با شاهد ۵۳/۲ درصد افزایش یابد (شکل ۴-۱). به نظر می‌رسد که همزیستی میکوریزا با ریشه از طریق افزایش جذب آب و مواد غذایی سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود رشد و ارتفاع گردیده است. در مطالعات مرادی و همکاران (۱۳۸۸)، و درزی و همکاران (۱۳۸۵) به ترتیب در مورد گیاه نخود و رازیانه تلقیح میکوریزا ارتفاع گیاه را به طور معنی داری افزایش داد. ویدادا و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیان داشتند که گیاه سورگوم تلقیح شده با میکوریزا دارای ارتفاع بیشتری بوده است.

جدول ۴-۱- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر ارتفاع ساقه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۶/۵
قارچ میکوریزا (M)	۲	۲۰/۸
امواج التراسونیک (F)	۴	۵۷**
M×F	۸	۴۵/۸**
خطا	۲۸	۱۱/۱

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین ارتفاع ساقه در سطوح مختلف امواج التراسونیک

امواج التراسونیک	ارتفاع ساقه (cm)
صفر (شاهد)	۳۲/۱b
۳ دقیقه	۳۳/۸b
۵ دقیقه	۳۷/۳a
۷ دقیقه	۳۸/۱a
۹ دقیقه	۳۴b



شکل ۴-۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر ارتفاع ساقه. M1، M2 و M3 به ترتیب معادل عدم تلقیح، تلقیح توصیه شده و تلقیح مضاعف قارچ میکوریزا و F1, F2, F3, F4 و F5 به ترتیب معادل ۰، ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه پرتودهی با التراسونیک.

۴-۲- عملکرد دانه

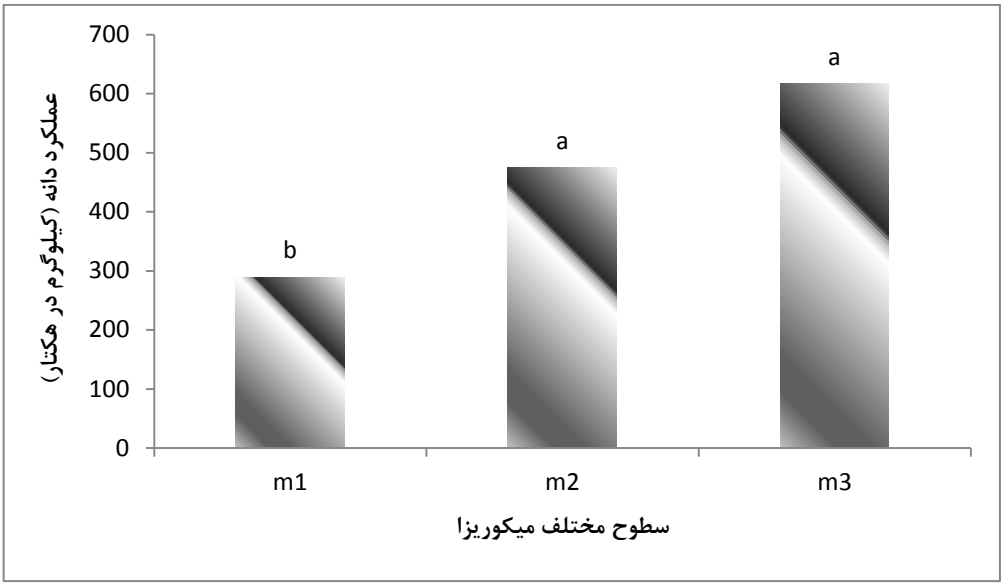
طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۳) میکوریزا به طور معنی داری (سطح احتمال ۱٪) عملکرد دانه را تحت تأثیر قرار داد. به طوری که بیشترین عملکرد دانه معادل ۶۱۶/۶ کیلوگرم در هکتار توسط تلقیح مضاعف و کمترین آن ۲۸۸/۸ کیلوگرم در هکتار در تیمار شاهد (عدم تلقیح میکوریزا) به دست آمده است. بین سطوح تلقیح اختلاف معنی داری وجود نداشته است (شکل ۴-۲). گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه نعناع با قارچ *G. fasiculatum* به طور قابل ملاحظه‌ای میزان جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم و عملکرد محصول را در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده افزایش داد.

این تأثیر مثبت برای سطوح امواج التراسونیک نیز صادق بود (جدول ۴-۳). به نحوی که بیشترین عملکرد دانه (۶۹۶/۳ کیلوگرم در هکتار) از تیمار ۷ دقیقه فراصوت حاصل شد و کمترین

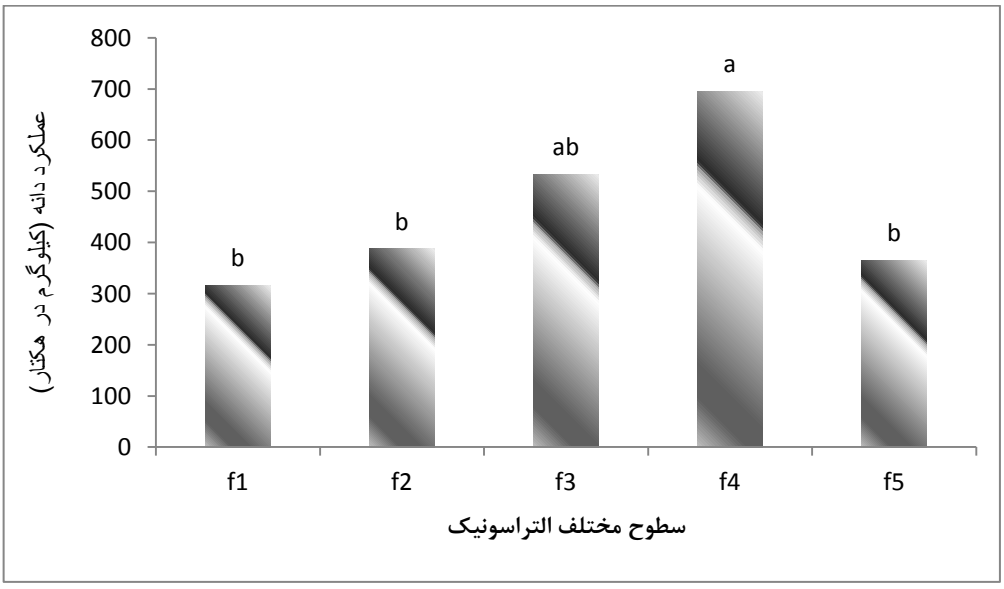
عملکرد دانه (۳۱۶/۵ کیلوگرم در هکتار) مربوط به شاهد می باشد (شکل ۴-۳). پرایمینگ بذور سیاه-دانه با موج التراسونیک از طریق تحریک و افزایش سرعت جوانه زنی و استقرار سریع گیاه می‌تواند فعالیت ریشه گیاه را در جذب آب و مواد غذایی بیشتر نماید که تأثیر مستقیمی بر میزان کلروفیل، فتوسنتز و نهایتاً عملکرد گیاه داشته باشد. همان طور که مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان تیمار التراسونیک به ۹ دقیقه ارتفاع ساقه به مقدار ۹۰/۶ درصد نسبت به تیمار ۷ دقیقه کاهش یافت. سرخی لله لو (۱۳۸۸)، طی تحقیقی بر جوانه زنی بذور گیاه همیشه بهار دریافت که با افزایش زمان تیمار التراسونیک درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه و وزن خشک گیاهچه کاهش یافت.

جدول ۴-۳- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد دانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۴۲۸۷/۸
قارچ میکوریزا (M)	۲	۴۰۵۲۸۰/۹**
امواج التراسونیک (F)	۴	۲۱۶۳۸۶/۳*
M×F	۸	۸۱۵۶۰/۸
خطا	۲۸	۵۶۶۳۷/۱



شکل ۴-۲- مقایسه میانگین عملکرد دانه در سطوح مختلف قارچ میکوریزا



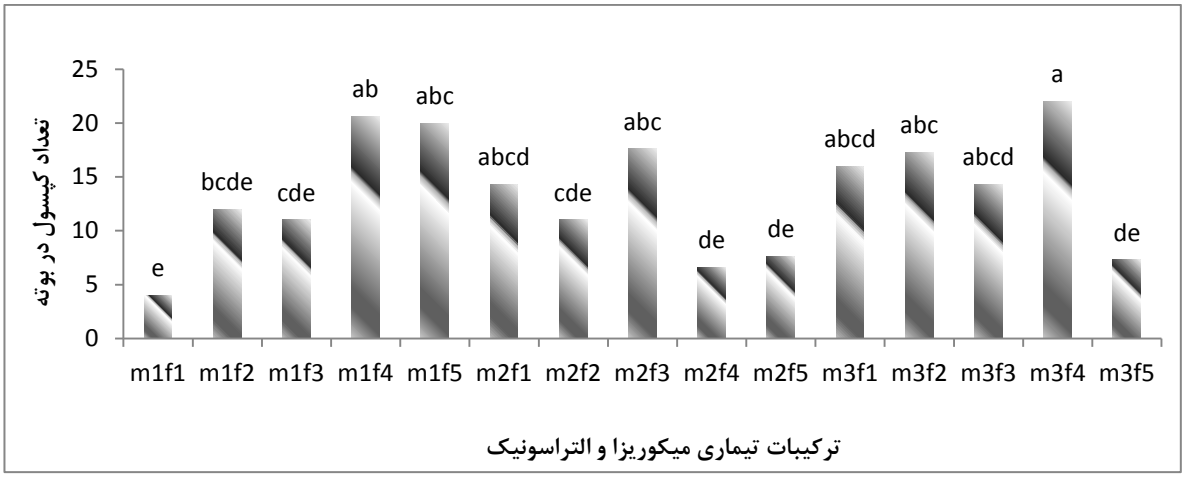
شکل ۴-۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه در سطوح مختلف امواج التراسونیک

۴-۳- تعداد کپسول در بوته

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۴) اثر اصلی میکوریزا و التراسونیک بر تعداد کپسول معنی دار نبوده است. اما اثر متقابل تلقیح میکوریزا و التراسونیک در سطح احتمال ۰/۰۱ به طور معنی داری بر تعداد کپسول تأثیر داشتند. نتایج بدست آمده نشان داد که کمترین تعداد کپسول مربوط به تیمار شاهد (۴ کپسول در بوته) و بیشترین تعداد کپسول مربوط به تیمار تلقیح مضاعف میکوریزا و ۷ دقیقه التراسونیک (۲۲ کپسول در بوته) بود (شکل ۴-۴). در آزمایشی که توسط میرزاخانی و همکاران (۱۳۸۹) بر روی گیاه گلرنگ صورت گرفت، مشاهده شد که اثر متقابل میکوریزا در سطوح کودی به طور چشم‌گیری تعداد غوزه را در مقایسه با شاهد افزایش دادند.

جدول ۴-۴- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر تعداد کپسول

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد کپسول
تکرار	۲	۹/۸
قارچ میکوریزا (M)	۲	۵۸
امواج التراسونیک (F)	۴	۳۸/۱
M×F	۸	۱۲۷/۴**
خطا	۲۸	۳۲/۵



شکل ۴-۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر تعداد کپسول در بوته. M1، M2 و M3 به ترتیب معادل عدم تلقیح، تلقیح توصیه شده و تلقیح دو برابر قارچ میکوریزا و F1, F2, F3, F4 وF5 به ترتیب معادل ۰، ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه پرتودهی با التراسونیک.

۴-۴- تعداد دانه در کپسول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس این صفت نشان داد که عوامل مورد بررسی در این تحقیق تأثیر معنی داری بر تعداد دانه در کپسول نسبت به شاهد نداشت (جدول ۴-۵). این نتیجه نشان می‌دهد که صفت تعداد بذر در کپسول بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ گیاه بوده و عوامل محیطی تأثیر کمتری بر این صفت دارد.

جدول ۴-۵- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر تعداد دانه در کپسول

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۲۵۲۰۱۳/۴
قارچ میکوریزا (M)	۲	۴۸۰۲۷۷/۴
امواج التراسونیک (F)	۴	۲۴۲۵۸۳/۴
M×F	۸	۲۵۴۶۴۵/۶
خطا	۲۸	۲۲۸۷۴۱

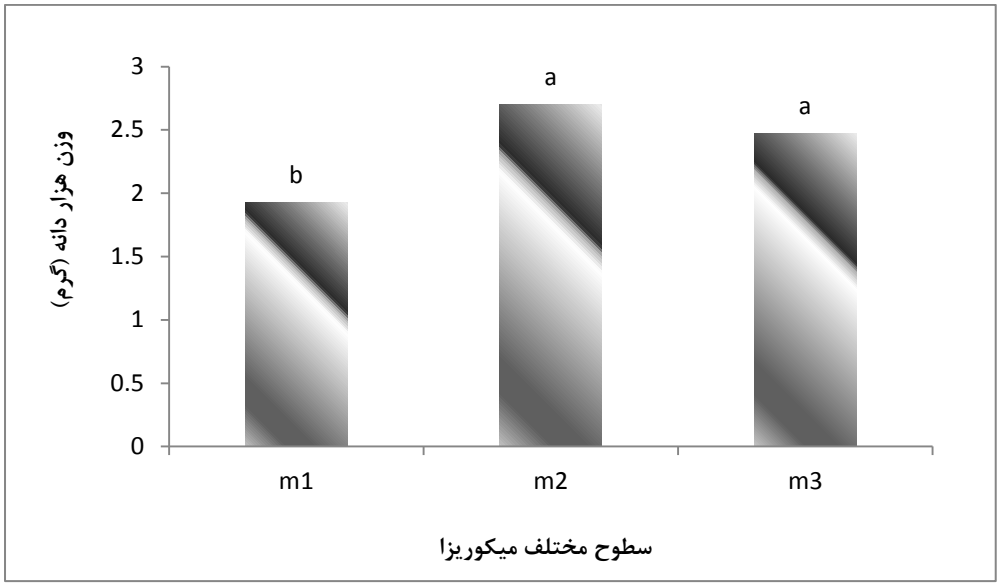
۴-۵- وزن هزار دانه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۶) مبین آن بود که تأثیر میکوریزا بر وزن هزار دانه در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد وزن هزار دانه در تلقیح با میکوریزا و در تلقیح مضاعف آن در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۳۹/۸ و ۲۷/۹ درصد بیشتر بود. اما اختلاف معنی داری بین سطوح مختلف تلقیح میکوریزا ایجاد نشد و این تفاوت تنها میان استفاده و عدم استفاده از این کود زیستی بود (شکل ۴-۵). احتمالاً تلقیح میکوریزا موجب گردیده که آب و مواد غذایی بیشتری به دانه‌ها منتقل شده و سبب بهبود وزن هزار دانه گردد. در همین رابطه درزی و همکاران (۱۳۸۵) در پژوهشی در مورد گیاه رازیانه، به نتایج مشابهی دست یافتند و با تلقیح میکوریزای *Glomus intraradices* وزن هزار دانه ۶ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. اختر و سیدیکویی (۲۰۰۹) و شاه حسینی و همکاران (۱۳۸۹) نیز اثر مثبت میکوریزا بر وزن صد دانه نخود و ذرت را گزارش کرده‌اند.

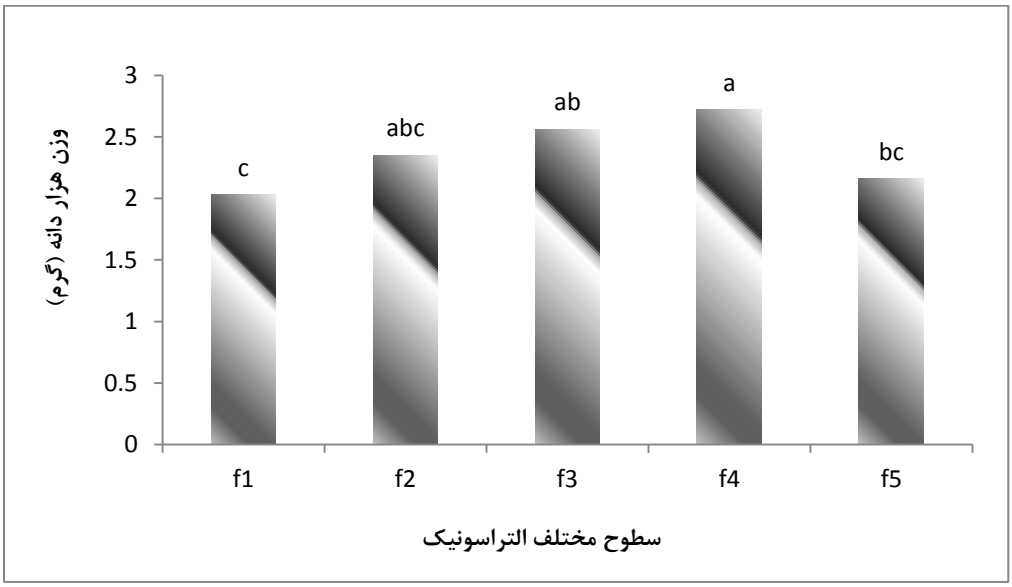
تأثیر سطوح مختلف امواج فراصوت نیز بر وزن هزار دانه در سطح $P\leq0.05$ معنی دار به دست آمد (جدول ۴-۶). به طوری که استفاده از ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه امواج فراصوت، وزن هزار دانه را به ترتیب ۱۵/۷، ۲۶/۱، ۳۳/۹ و ۶/۴ درصد نسبت به شاهد (عدم استفاده از امواج فراصوت) افزایش داد. همان طور که مشاهده می شود با افزایش مدت زمان تیمار التراسونیک به ۹ دقیقه وزن هزار دانه به مقدار ۲۵/۴ درصد نسبت به تیمار ۷ دقیقه کاهش یافت (شکل ۴-۶). سرخی لله لو (۱۳۸۸)، طی تحقیقی بر جوانه زنی بذور گیاه همیشه بهار دریافت که با افزایش زمان تیمار التراسونیک درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه و وزن خشک گیاهچه کاهش یافت. در پژوهشی دیده شد که استفاده از این امواج می‌تواند به کاهش ۳۰ تا ۴۵ درصدی زمان تا جوانه‌زنی بذور جو و افزایش درصد جوانه زنی منجر گردد (یلداگرد و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۴-۶- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر وزن هزار دانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۰/۰۱
قارچ میکوریزا (M)	۲	۲/۳۳**
امواج التراسونیک (F)	۴	۰/۷*
M×F	۸	۰/۲۵
خطا	۲۸	۰/۲۴



شکل ۴-۵- مقایسه میانگین وزن هزار دانه در سطوح مختلف قارچ میکوریزا



شکل ۴-۶- مقایسه میانگین وزن هزار دانه در سطوح مختلف امواج فراصوت

۴-۶- درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۷) حاکی از تأثیر معنی دار اثر قارچ میکوریزا در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد. گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا بیشترین درصد همزیستی را به خود اختصاص داده‌اند که با توجه به جدول مقایسه میانگین بین سطوح مختلف تلقیح از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود ندارد، ولی در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری دیده شد. تلقیح توصیه شده و تلقیح مضاعف درصد همزیستی را به ترتیب ۴۶/۶ و ۳۷/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داده‌اند (جدول ۴-۸). با توجه به جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود درصد همزیستی ریشه از نظر آماری تحت تأثیر امواج فراصوت و اثر متقابل قرار نگرفته است (جدول ۴-۷).

کاپور و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که تلقیح رازیانه با قارچ میکوریزا سبب افزایش معنی دار درصد همزیستی ریشه آن می‌گردد. در مطالعه دیگری که روی نعناع انجام گرفت، گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح گیاه نعناع با قارچ میکوریزا به طور قابل ملاحظه‌ای درصد همزیستی ریشه را در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده افزایش داد. در پژوهشی که روی گیاه دارویی شوید و زیره انجام شده بود، ملاحظه گردید که کاربرد دو گونه قارچ میکوریزای آرباسکولار به طور قابل توجهی درصد همزیستی ریشه گیاهان مذکور را بهبود بخشید (کاپور و همکاران، ۲۰۰۲a). تحقیقات راتی و همکاران (۲۰۰۱) و آریاگادا و همکاران (۲۰۰۷) به ترتیب روی گیاه دارویی علف لیمو و اکالیپتوس نیز نشان داد که درصد همزیستی ریشه در تلقیح با قارچ میکوریزا به طرز چشمگیری بیشتر از تیمار عدم تلقیح بود.

جدول ۴-۷- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر کلونیزاسیون ریشه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۷۲۹/۱
قارچ میکوریزا (M)	۲	۲۳۰۵/۶**
امواج التراسونیک (F)	۴	۲۳۵/۴
M×F	۸	۴۸۴/۵
خطا	۲۸	۲۶۲/۱

جدول ۴-۸- مقایسه میانگین کلونیزاسیون ریشه در سطوح مختلف قارچ میکوریزا

قارچ میکوریزا	کلونیزاسیون ریشه (٪)
شاهد	۵۰b
تلقیح توصیه شده	۷۳/۳a
تلقیح مضاعف	۶۸/۹a

۴-۷- عملکرد بیولوژیک

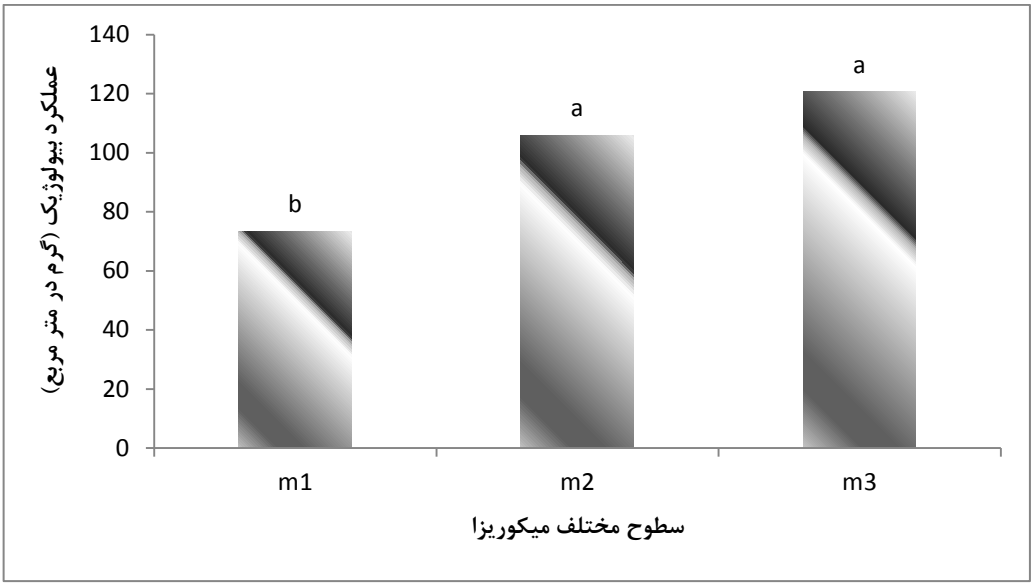
جدول حاصل از تجزیه واریانس داده نشان می دهد که سطوح مختلف تلقیح میکوریزا بر عملکرد بیولوژیک در سطح $P\leq0.05$ معنی دار بود (جدول ۴-۹). گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا بیشترین عملکرد بیولوژیک را به خود اختصاص داده‌اند، هرچند بین سطوح مختلف تلقیح میکوریزا از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود ندارد، ولی در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری دیده شد. تلقیح توصیه شده و تلقیح مضاعف عملکرد بیولوژیک را به ترتیب ۴۴/۶ و ۶۴/۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داده‌اند (شکل ۴-۷). در خصوص تأثیر همزیستی میکوریزا بر روی عملکرد بیولوژیک سیاه‌دانه، می‌توان اظهار کرد که تلقیح میکوریزا از طریق بهبود میزان فتوسنتز و رشد موجب افزایش بیوماس گیاهی و در نهایت عملکرد بیولوژیک می‌گردد. هیف‌های میکوریزا به دو دسته تقسیم می‌شوند، تعدادی از آنها وارد سیستم ریشه گیاه شده و سبب کاهش غلظت ABA (Abscisic acid) گشته و میزان سیتوکنین را افزایش می‌دهند. این عمل سبب افزایش جذب آب و گسترش سیستم ریشه‌ای گیاه می‌گردد. دسته دوم از هیف‌ها خارج از سیستم ریشه بوده، این هیف‌ها از خود اسیدهای آلی محلول کننده فسفر نظیر اسید مالیک ترشح کرده که جذب فسفر توسط گیاه را افزایش می‌دهد. این عوامل دست به دست هم داده و سبب افزایش عملکرد بیولوژیک در شرایط کاربرد قارچ میکوریزا می‌گردد. در همین زمینه گارگ و چندل (۲۰۱۱) با تلقیح *Glomus mosseae* در گیاه نخود به نتایج مشابهی دست یافتند و وزن خشک اندام هوایی با تلقیح میکوریزا افزایش یافت. همچنین نتایج تحقیقات ارتاس (۲۰۰۸) در مورد نخود، عدس، باقلای علوفه‌ای و علی آبادی فراهانی و همکاران (۲۰۰۸) در مورد گشنیز مؤید این مطلب است که همزیستی میکوریزا سبب بهبود عملکرد بیولوژیکی در گیاهان مذکور گردیده است.

تأثیر سطوح مختلف امواج التراسونیک نیز بر عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار به دست آمد (جدول ۴-۹). به نحوی که بیشترین عملکرد بیولوژیک معادل ۱۳۸/۳ گرم در متر مربع

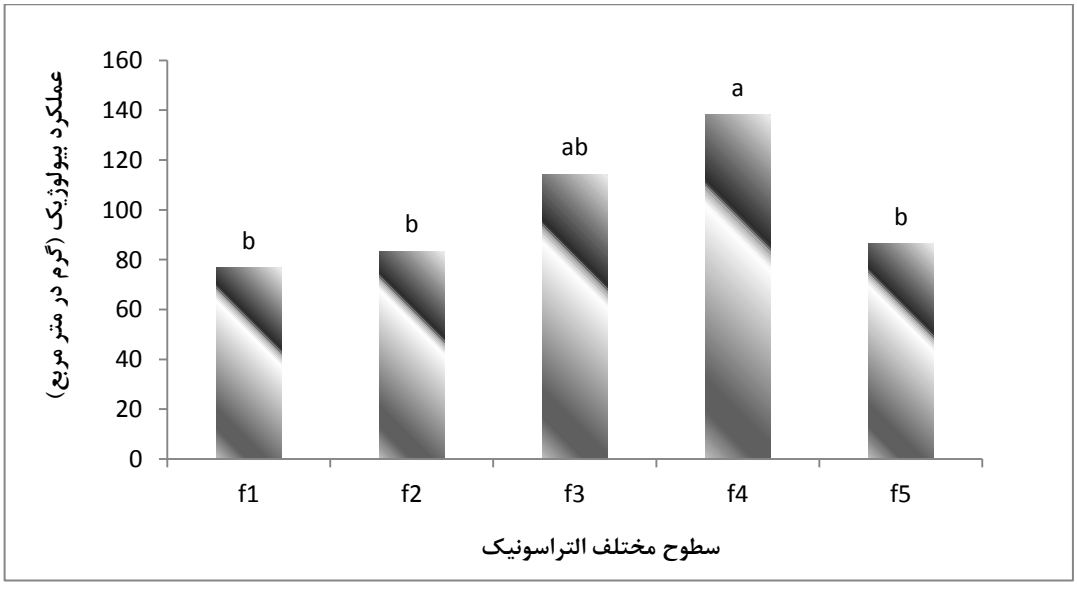
در تیمار ۷ دقیقه فراصوت و کمترین عملکرد بیولوژیک در تیمار شاهد معادل ۷۷ گرم در متر مربع بدست آمد. به طوری که استفاده از ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه امواج فراصوت، عملکرد بیولوژیک را به ترتیب ۸/۵، ۴۸/۸، ۸۰ و ۱۲/۵ درصد نسبت به شاهد (عدم استفاده از امواج فراصوت) افزایش داد (شکل ۴-۸). پرایم بذور سیاه‌دانه با امواج التراسونیک موجب افزایش سرعت جوانه زنی و با استقرار سریع گیاه و دریافت بیشتر از عناصر طبیعی (رطوبت، نور و ...) و افزایش رشد و عملکرد سیاه‌دانه می گردد.

جدول ۴-۹- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد بیولوژیک

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۱۱۳۹۰/۷**
قارچ میکوریزا (M)	۲	۸۸۱۱/۲*
امواج التراسونیک (F)	۴	۵۹۸۰/۶*
M×F	۸	۳۶۸۹
خطا	۲۸	۱۷۸۱/۱



شکل ۴-۷- مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک در سطوح مختلف قارچ میکوریزا



شکل ۴-۸- مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک در سطوح مختلف امواج التراسونیک

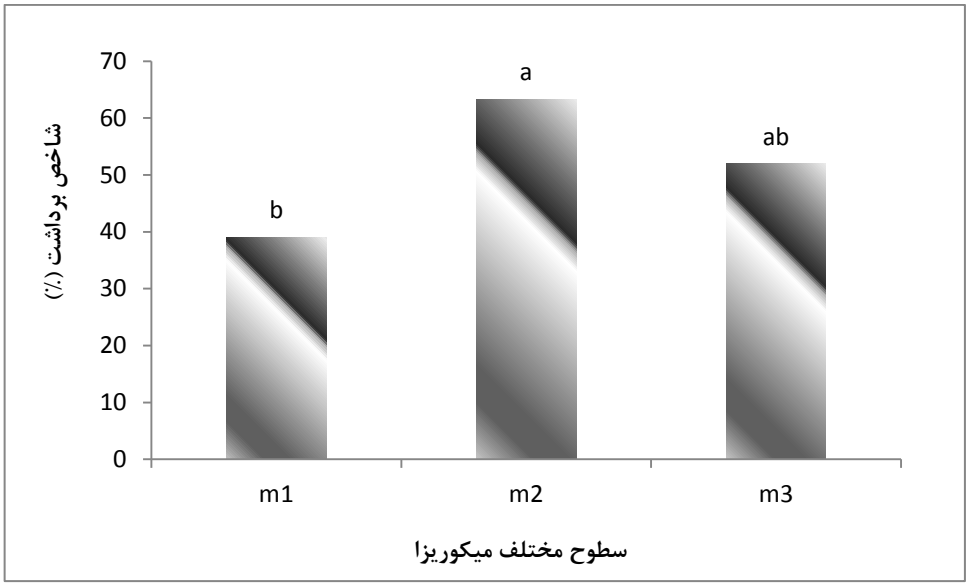
۴-۸- شاخص برداشت

شاخص برداشت بیان کننده‌ی نسبت توزیع مواد فتوسنتزی بین عملکرد اقتصادی و عملکرد کل می‌باشد. عملکرد یک گیاه را می‌توان از طریق افزایش کل ماده خشک تولید شده در مزرعه یا افزایش سهم عملکرد اقتصادی (شاخص برداشت) و یا هر دو بالا برد (کوچکی و سرمدنیا، ۱۳۷۷).

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۱۰) اثر اصلی قارچ میکوریزا بر شاخص برداشت در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار بود. به طوری که بیشترین شاخص برداشت در تیمار تلقیح توصیه شده قارچ میکوریزا معادل ۶۳/۳ درصد حاصل شد که شاخص برداشت را ۶۲/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. هر چند که بین سطوح دوم و سوم تلقیح از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود نداشته است (شکل ۴-۹). محققین نشان دادند که شاخص برداشت در گیاه نخود در صورت وجود میکروارگانیسم‌ها و میکوریزا بیشتر بود که این افزایش را ناشی از افزایش جذب فسفر و نیتروژن و افزایش فتوسنتز گیاه دانستند (جکوبسن، ۱۹۸۷).

جدول ۴-۱۰- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر شاخص برداشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۱۸۳۵/۷
قارچ میکوریزا (M)	۲	۲۲۳۰/۲*
امواج التراسونیک (F)	۴	۳۹۹/۸
M×F	۸	۱۰۶۵/۵
خطا	۲۸	۶۴۰/۸



شکل ۴-۹- مقایسه میانگین شاخص برداشت در سطوح مختلف قارچ میکوریزا

۴-۹- درصد اسانس

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۱۱) نشان می‌دهد که تلقیح سطوح مختلف قارچ میکوریزا بر درصد اسانس در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار شد. با توجه به مقایسات میانگین (جدول ۴-۱۲) بیشترین درصد اسانس (۱/۱٪) در تیمار تلقیح مضاعف میکوریزا حاصل شد که درصد اسانس را ۲۲/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. همانطور که مشاهده می‌شود بین تلقیح توصیه شده میکوریزا و تیمار شاهد تفاوت معنی داری وجود ندارد. با افزایش درصد اسانس در اثر مصرف تیمارهای مختلف کودی می‌توان گفت از آنجا که اسانس‌ها ترکیبات ترپنوئیدی بوده و بیوسنتز واحد-های سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) نیازمند ATP و NADPH هستند و با توجه به این مطلب که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای این ترکیبات امری ضروری می‌باشد (لومیس و کارتیو، ۱۹۷۳) لذا مصرف کودهای زیستی موجب افزایش اسانس گیاه می‌شود. تأثیر قارچ میکوریزا بر میزان اسانس

گیاهانی مانند ریحان شیرین (رسولی صادقیانی و همکاران، ۲۰۱۰) و ۳ گونه نعناع و پونه کوهی (کاراگیانیدیس و همکاران، ۲۰۱۲) معنی دار بدست آمده است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

در برخی پژوهش‌ها نتیجه متناقض با تحقیق حاضر نیز بدست آمده است. در این خصوص تحقیقات انجام شده در مورد تأثیر کودهای بیولوژیک بر میزان اسانس رازیانه نشان داده است که تیمار شاهد بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده است (مرادی و همکاران، ۱۳۹۰).

عوامل گوناگونی مقدار ماده مؤثره گیان دارویی را تحت تأثیر قرار می‌دهد از جمله می‌توان آب، دما و خصوصیات خاک مانند خواص فیزیکی، شیمیایی و عناصر غذایی را ذکر کرد. واکنش گیاهان دارویی مختلف به این عوامل متفاوت بوده است و نمی‌توان روند یکسانی را در مورد همه گیاهان دارویی عنوان نمود.

سطوح مختلف امواج فراصوت نیز درصد اسانس را به طور معنی داری (سطح احتمال ۰/۰۱) تحت تأثیر قرار داد (جدول ۴-۱۱). به طوری که بیشترین درصد اسانس در تیمار ۵ دقیقه پرتودهی با امواج فراصوت معادل ۱/۳٪ بدست آمد که با تیمار ۷ و ۹ دقیقه تفاوت معنی داری نداشتند و کمترین آن در تیمار شاهد برابر ۰/۶٪ محاسبه گردید. همانطور که مشاهده می‌شود بین تیمار ۳ دقیقه امواج فراصوت و تیمار شاهد تفاوت معنی داری وجود ندارد (جدول ۴-۱۳). در استخراج همی-سلولز از نیشکر امواج فراصوت موجب افزایش خروج همی‌سلولز از طریق شکسته شدن اتصالات بین همی‌سلولز و لیگنین می‌شود (هرومادکوا و همکاران، ۲۰۰۳). اثر امواج فراصوت در استخراج مواد گیاهی به واسطه شکستن سلول‌ها و رهایش محتویات آن به محیط استخراج است.

جدول ۴-۱۱- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر درصد اسانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۰/۳۷*
قارچ میکوریزا (M)	۲	۰/۳۲*
امواج التراسونیک (F)	۴	۰/۶۶**
M×F	۸	۰/۵۹**
خطا	۲۸	۰/۰۸

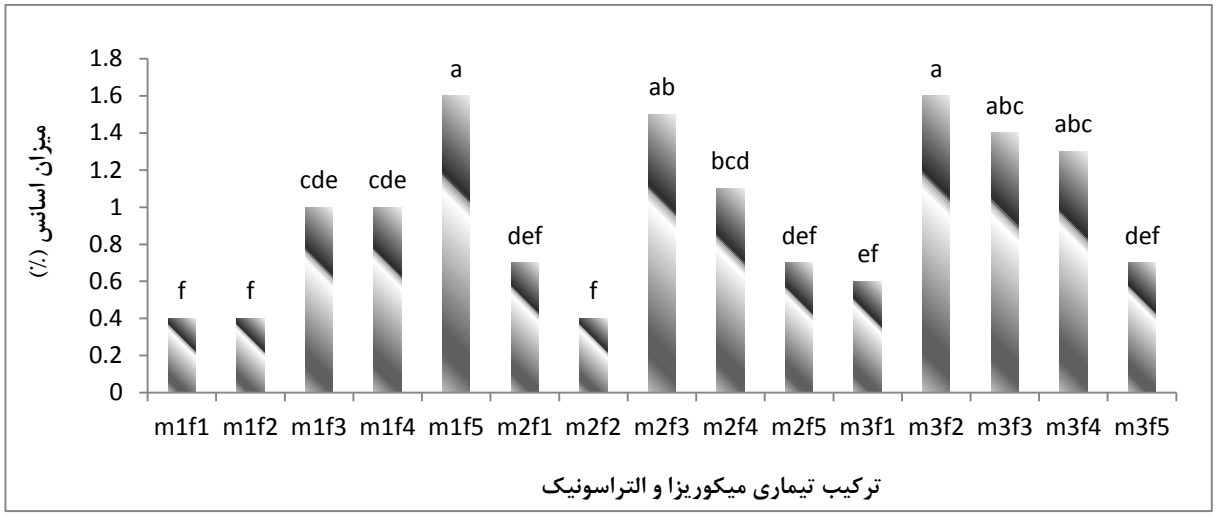
جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین درصد اسانس در سطوح مختلف قارچ میکوریزا

قارچ میکوریزا	اسانس (٪)
شاهد	۰/۹۱b
تلقیح توصیه شده	۰/۹۳b
تلقیح مضاعف	۱/۱۷a

جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین درصد اسانس در سطوح مختلف امواج التراسونیک

امواج التراسونیک	اسانس (٪)
صفر (شاهد)	۰/۶۲c
۳ دقیقه	۰/۸۵cb
۵ دقیقه	۱/۳۳a
۷ دقیقه	۱/۱۴a
۹ دقیقه	۱/۰۷ab

اثر متقابل قارچ میکوریزا و امواج فراصوت نیز در سطح احتمال ۰/۰۱ دارای اثر معنی داری بر درصد اسانس می‌باشد (جدول ۴-۱۱). در بررسی اثر متقابل بیشترین درصد اسانس معادل ۱/۶٪ در تیمار عدم کاربرد میکوریزا به همراه ۹ دقیقه امواج التراسونیک و تیمار تلقیح مضاعف میکوریزا به همراه کاربرد ۳ دقیقه التراسونیک حاصل گردید و کمترین درصد اسانس برابر ۰/۴٪ در تیمار شاهد و تیمار عدم تلقیح میکوریزا به همراه ۳ دقیقه التراسونیک و تیمار تلقیح توصیه شده به همراه ۳ دقیقه التراسونیک بدست آمد (شکل ۴-۱۰).



شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر درصد اسانس. M1، M2 و M3 به ترتیب معادل عدم تلقیح، تلقیح توصیه شده و تلقیح مضاعف قارچ میکوریزا و F1, F2, F3, F4 و F5 به ترتیب معادل ۰، ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه پرتودهی با التراسونیک.

۴-۱۰- عملکرد اسانس

اثر قارچ میکوریزا بر عملکرد اسانس در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بدست آمد (جدول ۴-۱۴). به طوری که بیشترین عملکرد اسانس یعنی ۷/۹ کیلوگرم در هکتار در تلقیح مضاعف قارچ میکوریزا و کمترین آن برابر ۳ کیلوگرم در هکتار در تیمار شاهد بدست آمد که از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با تلقیح توصیه شده نداشت (شکل ۴-۱۱). در بررسی که توکلی دینانی (۱۳۸۸) بر روی گیاه شوید انجام داد، کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش چشمگیر درصد اسانس، عملکرد بذر و به دنبال آن عملکرد اسانس شد.

سطوح امواج فراصوت نیز تأثیرات متفاوتی را (در سطح ۱٪) بر عملکرد اسانس به جای گذاردند (جدول ۴-۱۴). به نحوی که گیاهان تیمار شده با ۷ دقیقه امواج فراصوت دارای بالاترین عملکرد اسانس معادل ۸/۷ کیلوگرم در هکتار و گیاهان شاهد با ۲/۳ کیلوگرم در هکتار کمترین عملکرد اسانس را حاصل نمودند (شکل ۴-۱۲). در این آزمایش عملکرد دانه و درصد اسانس که از اجزای

عملکرد اسانس هستند در تیمارهای فراصوت برتر از شاهد بودند. بنابراین می‌توان انتظار داشت که عملکرد اسانس نیز در این تیمارها نسبت به شاهد بیشتر باشد.

جدول ۴-۱۴- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر عملکرد اسانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۱۶/۴
قارچ میکوریزا (M)	۲	۹۳/۷**
امواج التراسونیک (F)	۴	۶۹/۶**
M×F	۸	۲۹/۴
خطا	۲۸	۱۶/۲۳

جدول۴-۱۵- مقایسه میانگین عملکرد اسانس در سطوح مختلف میکوریزا

قارچ میکوریزا	عملکرد اسانس
شاهد	۳b
تلقیح توصیه شده	۴/۵b
تلقیح مضاعف	۷/۹a

جدول ۴-۱۶- مقایسه میانگین عملکرد اسانس در سطوح مختلف امواج التراسونیک

امواج التراسونیک	عملکرد اسانس
صفر (شاهد)	۲/۳c
۳ دقیقه	۳/۵c
۵ دقیقه	۷/۴ab
۷ دقیقه	۸/۷a
۹ دقیقه	۳/۷bc

۴-۱۱- روغن دانه

همانطور که در جدول ۴-۱۵ مشاهده می‌شود تأثیر التراسونیک بر مقدار روغن سیاه‌دانه (سطح احتمال ۰/۰۱) معنی دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها نشان داد که ۳ دقیقه فراصوت با ۳۷/۲ درصد توانسته بیشترین میزان روغن دانه را حاصل نماید که به نسبت شاهد ۸/۴ درصد افزایش یافت. تیمار ۵ و ۷ دقیقه فراصوت روغن دانه را ۴/۹ و ۳/۴ درصد افزایش دادند. همانطور که مشاهده می‌شود تیمار ۹ دقیقه التراسونیک تفاوت معنی داری را از نظر آماری با شاهد ایجاد نکرد (شکل ۴-۱۶). به کارگیری روش های نوین از جمله مایکروویو، میدان های الکتریکی پاسی و امواج فراصوت غالباً باعث افزایش سرعت و راندمان استخراج روغن می‌شود (ماسون، ۱۹۹۸).

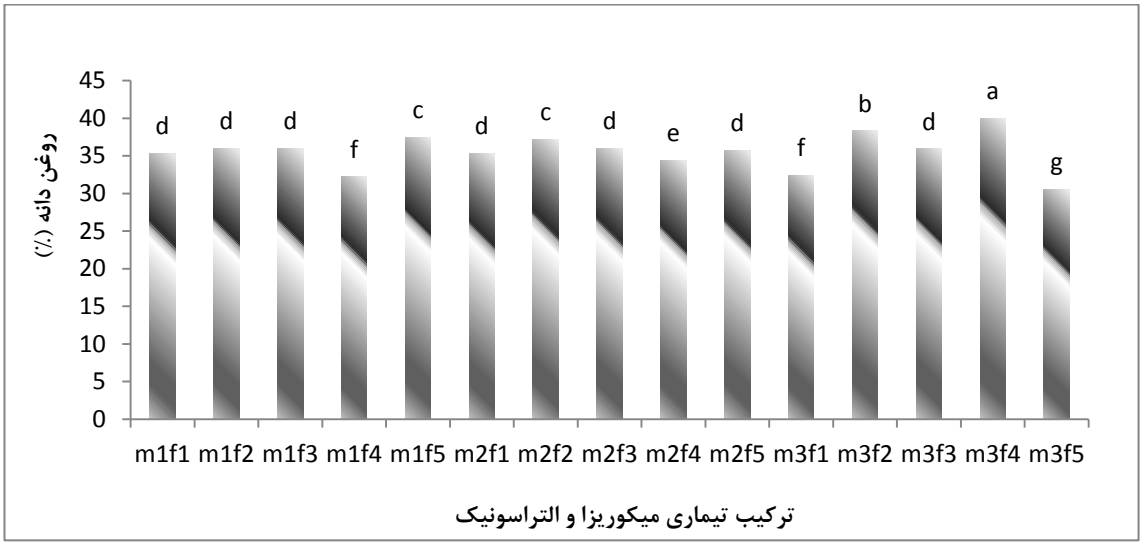
جدول ۴-۱۷- تجزیه واریانس اثرات قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر روغن دانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۰/۰۰۶
قارچ میکوریزا (M)	۲	۰/۴۹۱
امواج التراسونیک (F)	۴	۱۲/۱۴۶**
M×F	۸	۲۴/۸۲۴**
خطا	۲۸	۰/۲۰۶

جدول ۴-۱۸- مقایسه میانگین روغن دانه در سطوح مختلف امواج التراسونیک

امواج التراسونیک	روغن دانه (٪)
صفر (شاهد)	۳۴/۳d
۳ دقیقه	۳۷/۲a
۵ دقیقه	۳۶b
۷ دقیقه	۳۵/۵c
۹ دقیقه	۳۴/۵d

اثر متقابل میکوریزا و فراصوت نیز در سطح ۱ درصد معنی دار بدست آمد (جدول ۴-۱۵). به طوری که تیمار تلقیح مضاعف قارچ میکوریزا به همراه ۷ دقیقه فراصوت بیشترین مقدار روغن دانه را حاصل نموده و توانسته روغن دانه را ۱۳/۳ درصد افزایش دهد و تیمار تلقیح مضاعف به همراه ۹ دقیقه التراسونیک (۳۰/۵٪) کمترین میزان روغن را بدست آورد (شکل ۴-۱۳).



شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل قارچ میکوریزا و امواج التراسونیک بر روغن دانه. M1، M2 و M3 به ترتیب معادل عدم تلقیح، تلقیح توصیه شده و تلقیح ضاعف قارچ میکوریزا و F1, F2, F3, F4 و F5 به ترتیب معادل ۰، ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه پرتودهی با التراسونیک.

نتیجه گیری

این بررسی نشان داد که:

- بسیاری از صفات کمی و کیفی گیاه دارویی سیاه‌دانه به طور معنی داری تحت تأثیر قارچ میکوریزا و امواج فراصوت قرار گرفت. صفات عملکرد دانه، وزن هزار دانه، کلونیزاسیون ریشه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت تحت تأثیر اثر اصلی میکوریزا معنی دار شدند و مشاهده شد که بین سطوح تلقیح میکوریزا از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود ندارد. همچنین قارچ میکوریزا بر عملکرد اسانس معنی دار بود به طوری که بیشترین عملکرد اسانس در تلقیح مضاعف میکوریزا بدست آمد. اثر اصلی امواج فراصوت نیز باعث افزایش در عملکرد دانه، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس گردید. که بیشترین افزایش معنی دار مربوط به تیمار ۵ و ۷ دقیقه امواج فراصوت بود. تعداد دانه در کپسول تحت تأثیر هیچ یک از تیمار ها در این آزمایش قرار نگرفت.
- کاربرد توأم قارچ میکوریزا و امواج فراصوت می‌تواند باعث افزایش معنی دار بر ارتفاع ساقه، تعداد کپسول در بوته و صفات کیفی (درصد اسانس و روغن دانه) شود.

در یک جمع بندی کلی نتایج می‌توان گفت از آنجایی که ترکیبات موجود در گیاهان دارویی از جمله سیاه‌دانه به منظور ساخت داروها استفاده می گردد و در ارتباط مستقیم با سلامت انسان می باشد لذا کاربرد کودهای زیستی نظیر قارچ میکوریزا و استفاده از تکنولوژی‌های جدید غیر مخرب مانند التراسونیک در تولید گیاهان دارویی برای تغذیه سالم گیاهان، دارای بیشترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی بوده و موجب بهبود عملکرد کمی و کیفی آنها می گردد. همچنین لازم به ذکر است که استفاده از میکوریزا نسبت به کودهای معدنی هزینه بیشتری را در پی دارد. اما اثرات دراز مدت آن بر خصوصیات خاک، تأمین عناصر غذایی کم مصرف و پرمصرف و حفظ خواص بیولوژی خاک می تواند کاهش سود حاصله را جبران نموده و استفاده متوالی و بهینه از زمین‌های کشاورزی را ممکن سازد. در

نهایت می‌توان چنین گفت که علاوه بر افزایش در رشد و عملکرد سیاه‌دانه استفاده ازاین کود آلی و تکنولوژی جدید فراصوت به دلیل کاهش آلودگی‌های زیست محیطی می تواند نقش به‌سزایی را در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار ایفا کند.

پیشنهادات

- اثر قارچ میکوریزا وامواج فراصوت روی سایر گیاهان دارویی نیز مورد بررسی قرار گیرد.
- استفاده از کودهای بیولوژیک برای بهبود رشد و عملکرد و مقدار اسانس گیاه سیاه‌دانه در شرایط آب و هوایی متفاوت در مناطق مختلف ایران.
- به کارگیری مدت زمان های مختلف امواج فراصوت برای بدست آوردن نتایج بهتر.

منابع

احمدی ع، احسان زاده پ و جباری ف، (۱۳۸۳) "مقدمه‌ای بر فیزیولوژی گیاهی" جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، ص۲۱.

امیرآبادی م، رجالی ف، اردکانی م.ر. و برجی م، (۱۳۸۸) "تأثیر کاربرد مایه تلقیح ازتوباکتر و قارچ میکوریزی بر جذب برخی عناصر معدنی توسط ذرت علوفه‌ای (رقم سینگل کراس ۷۰۴) در سطوح مختلف فسفر" **مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)**، شماره ۱، جلد ۲۳، ص ۱۰۷.

امید بیگی ر، (۱۳۷۵) "داروهای گیاهی از گذشته تاکنون" **مجله آرایشی و بهداشتی**، شماره ۱۹، ص ۳۶-۶۵.

امید بیگی ر، (۱۳۷۹) **"تولید و فراوری گیاهان دارویی"** جلد سوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ص ۲۳۰.

امید بیگی ر، (۱۳۸۴) **"تولید و فراوری گیاهان دارویی"** جلد اول، انتشارات آستان قدس رضوی، ص ۳۴۸.

بابایی آ، (۱۳۷۴)، پایان نامه کارشناسی ارشد: "بررسی اثر تنش آب در مراحل رشد و نمو، کمیت و کیفیت اسانس و مقدار روغن سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)" دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

بینا ف، رضایی آ. و آقایی زاده م، (۱۳۸۷)، "بررسی تأثیر امواج مافوق صوت بر فرایند فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی تنژیدن بذر" اولین همایش ملی زیست شناسی گیاهی، ص۲۴، تهران.

توکلی دینانی ا، (۱۳۸۸)، پایان نامه کارشناسی ارشد: "بررسی تاثیر کودهای زیستی حل کننده فسفات بر عملکرد کمی و کیفی دو رقم گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens L.*)" دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن.

ثواقبی غ. ر، سادات ع، رجالی ف، فرح‌بخش م، خاوازی ک. و شیرمردی م، (۱۳۸۹) "تأثیر چند نوع قارچ میکوریز آربوسکولار و باکتری محرک رشد گیاه بر شاخص‌های رشد و عملکرد دو رقم گندم در یک خاک شور" **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)**، شماره ۱، جلد ۲۴، ص ۵۳.

جانزاده ع، (۱۳۷۷) **"اعجاز گل‌ها و گیاهان دارویی"** انتشارات ایذه، ص۳۰۴.

درزی م. ت، قلاوند ا، رجالی ف. و سفیدکن ف، (۱۳۸۵) "بررسی کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgar Mill.*)" **فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۴، جلد ۲۲، ص ۲۷۶-۲۹۲.

درزی م. ت، قلاوند ا. و رجالی ف، (۱۳۸۷) "بررسی اثر کاربرد میکوریزا، ورمی‌کمپوست و کود فسفات زیستی بر گلدهی، عملکرد بیولوژیک و همزیستی ریشه در گیاه دارویی رازیانه" **مجله علوم زراعی ایران**، شماره ۱۰، دوره ۱، ص ۸۸.

ذکی دیزجی ح، مینایی س، توکلی هشتجین ت، مختاری دیزجی م، منتظر، ع، (۱۳۸۷)، "کیفیت سنج فراصوتی برای محصولات کشاورزی" مجموعه مقالات پنجمین کنگره مهندسی ماشین‌های کشاورزی و مکانیزاسیون ایران، ص۳۴، تهران.

زرگری ع، (۱۳۶۸) **"گیاهان دارویی"** انتشارات دانشگاه تهران، جلد اول، ص۴۷۴.

سرخی لله‌لو ف، (۱۳۸۸)، "ارزیابی اثرات امواج فراصوت و میدان مغناطیسی بر جوانه زنی بذور گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula ifficinalis* L.)" ششمین گنگره علوم باغبانی ایران، تیر ماه ۱۳۸۸، دانشگاه گیلان.

شاه حسینی، ز، غلامی ا، اصغری ح.ر، قلی پور م. و فلاح ع، (۱۳۸۹)، "تأثیر قارچ‌های میکوریزای آرباسکولار بر روی برخی از شاخص‌های رشد و عملکرد در ذرت تحت شرایط تنش کم آبی" یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، ص ۳۷۷، دانشگاه شهید بهشتی تهران.

صابری م، (۱۳۷۰)، پایان نامه دکتری: "فرمولاسیون ساخت و بررسی یک داروی مؤثر زگیل با منشاء گیاهی" دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

صالح راستین ن، (۱۳۷۷) "کودهای بیولوژیک" **نشریه علمی خاک و آب**، شماره ۳، جلد ۱۲، موسسه تحقیقات آب و خاک، سازمان تحقیقات کشاورزی، ص ۱.

علیزاده اسکوئی پ، (۱۳۸۰)، پایان نامه ارشد: "تأثیر قارچ‌های میکوریز VAM بر عملکرد، جذب P، Fe، Mn و غلظت ویتامین C میوه گوجه فرنگی در سطوح مختلف فسفر" دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

عماد م، (۱۳۷۷) **"شناسائی گیاهان دارویی و صنعتی، جنگلی و مرتعی و موارد مصرف آن‌ها"** جلد اول، انتشارات موسسه پژوهشی کاریز، ص۳۴.

فلوک ه، (۱۳۶۸) **"گیاهان دارویی"** (ترجمه م.ر.، توکلی-صابری و م.ر.، صداقت)، انتشارات روز بهان، ص۷۶.

قاسمی ع، (۱۳۸۸) **"گیاهان داروئی و معطر شناخت و بررسی اثرات آن‌ها"** چاپ اول، انتشارات دانشگاه آزاد واحد شهرکرد، شهر کرد، ص۵۴۱.

قهرمان ا، (۱۳۶۲) **"فلور رنگی ایران"** انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ص۲۱.

کوچکی ع. و سرمدنیا غ، (۱۳۷۷) **"فیزیولوژی گیاهان زراعی"** ترجمه، چاپ هفتم، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ص۳۴۲.

لطفی خرداد م، (۱۳۷۰)، پایان نامه دکتری: "بررسی برخی اثرات فارماکولوژیک داروی زیاد کننده شیر و اثرات آن بر پرولاکتین سرم انسان" دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

میر حیدر ح، (۱۳۷۴) **"معارف گیاهی"** جلد پنجم، دفتر نشر و فرهنگ اسلامی، ص۲۸۵.

میرزاخانی م، اردکانی م.ر، آینه بند ا، شیرانی راد ا.ح و رجالی ف، (۱۳۸۹)، "پاسخ گلرنگ به حاصلخیز کننده‌های زیستی تحت سطوح مختلف نیتروژن و فسفر" یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، ص ۳۷، دانشگاه شهید بهشتی تهران.

مرادی ر، نصیری محلاتی م، رضوانی مقدم پ، لکزیان ا. و نژاد علی ع، (۱۳۹۰) "تأثیر کودهای بیولوژیک و آلی بر کمیت و کیفیت گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgar Mill*)" **نشریه علوم باغبانی**، شماره ۱، دوره ۱۵: ص ۳۳-۲۵.

مرادی ص، بشارتی ح، فیضی اصل و، نادیان ح.ا، کریمی ا. و گلچین ا، (۱۳۸۸)، "بررسی اثر سطوح مختلف رطوبت، میکوریز و ریزوبیوم در تاریخ سبز کردن، زمان گلدهی و صفات مورفولوژیک نخود" یازدهمین کنگره علوم خاک ایران، ص ۲۴۳، گرگان.

مسکوکی ع.م. و مرتضوی ع، (۱۳۸۰) **"طرح جامع استراتژیک تولید، تبدیل و توزیع زرشک بی‌دانه"** وزارت صنایع، معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد.

مسکوکی ع.م. مرتضوی ع. و مسکوکی آ، (۱۳۸۶) "بررسی توأم فراصوت و قلیا در کاهش زمان خشک کردن انگور و تولید کشمش" **مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران**، شماره ۱۰، دوره ۱: ص ۳۶.

نوربخش ف. و حاج عباسی م.ا، (۱۳۷۸) **"بیولوژی خاک"** جلد اول، انتشارات غزل، تهران، ص۱۹۸.

Akgul A., (1989) "Antimicrobial activity of Black cumin (*Nigella sative L*.) essential oil", Gazi. Univ. Eszacilic., Fak. Derg.

Akhtar M. S. and Siddiqui Z. A. **(2009)** "Effect of phosphate solubizing micro organisms and *Rhizobium* sp. on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition" **Afr. J. Biotech., 8, 15,** pp **3489.**

Alhader A., Aqel M. and Hasan Z. **(1993**) "Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa L*". **Int. J. Pharmacogn.**, **31,** pp **100.**

Aliabadi Farahani H., Lebaschi M. H. and Hamidi A. **(2008)** "Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus and water stress on quantity and quality characteristics of Coriander" **Adv. in Nat. Appl. Sci**., **2, 2,** pp **55**.

Al-Karaki G. N. and Clark R. B. **(1998)** "Growth, mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress" **J. Plant Nutr., 21**, pp **263**.

Al-Karaki G. N. **(2006)** "Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water" **Sci. Hortic., 109**, pp **1**.

Arriagada C. A., Herrera M. A. and Ocampo J. A. **(2007)** " Beneficial effect of saprobe and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of Eucalyptus globules co-cultured

with Glycine max in soil contaminated with heavy metals" **Journal of Environmental Management., 84** pp **99.**

Babayan V. K., Koottungab d. and halaby G. A. **(1978**) " Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of *Nigella sative L*. Seeds" **J. Food Sci., 43,** pp **1351.**

Barea J. M., Ferrol N., Azcon-sAguilar C. and Azcon R. (2008). Mycorrhizal symbioses, pp 143–163, In: "**The ecophysiology of plant-phosphorus interactions**", White P. J. and Hammond J. P., Springer. Dordrecht.

Barton S., Bullock c. and Weir D. **(1996)** "The effects of ultrasound on the activities of som glycosidase enzymes of industrial importance, Enzyme and Microb" **Technol**, **18,** pp**194.**

Bassim Atta A. **(2003)** "Some characteristics of *Nigella withania* somnifera" **Plant Omics Journal, 2,** pp **85.**

Berta G., Fusconi A. and Hooker J. E. (2002). Arbuscular mycorrhizal modifications to plant root systems: scale, mechanisms and consequences. pp 71-85 In: "**Mycorrhiza Technology in Agriculture, from Genes to Bioproducts**", Gianinazzi, S., Schuepp H. Barea J. M. and Haselwandter K., Basel, Switzerland, Birkhauser Verlag.

Bolan N. S. **(1991)** "A critical review on the role of mycorrhiazal fuungi in the uptake of phosphorus by plant" **plants and soil, 134,** pp **189.**

Breitbach M. D., Bathen T. and Schmidt F. **(2002)** "Desorption of a fixed bed adsorber by ultrasound" **Ultrasonic., 40,** pp **679.**

Bucking H., Lammers P. J. and Shachar-Hill Y. **(2005) "**Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis" **Nature**, **435**, pp **819**.

Buscot F. (2005). What are soils, pp 3–17, In: "**Microorganisms in soils: Roles in genesis and functions**", Buscot F. and Varma A. Vol 3, Soil Biology, Springer-Verlag, Heidelberg.

Busse M. D. and Ellis J. R. **(1985)** "Vesicular–arbuscular mycorrhizal (*glomus fasiculatum*) influence on soybean drought tolerance in high phosphorus soil" **Can. J. Bot. 63,** pp **2290.**

Cavagnaro T. R., Smith, F. A., Smith, S.E. and Jakobsen, I. **(2005)** "Functional diversity in arbuscular mycorrhizas: exploitation of soil patches with different phosphate enrichment differs among fungal species" **Plant Cell Environ., 28,** pp **642**.

Cavagnaro T. R., Jackson L. E., Six, J., Ferris, H., Goyal, S., Asami, D. and Scow K. M. **(2006) "**Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability and soil aggregates in organic tomato production" **Plant Soil., 282,** pp **209**.

Chen F., sun Y., Zhao G., Liao X., Hu X., Wu J. and Wang Z. **(2006)** "Optimization of ultrasound – assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using HPLC–MS" **Ultrasonics Sonochemistry, 14,** pp **767.**

Chisti Y. **(2002)** "Sonobioreactores: Using ultrasound for enhanced microbial productivity" **Trends in Biotech, 21,** pp **89.**

Chorpa T. G. L. **(1998**) "Angiosperms" **Pradeep publications, Jalandhar, India,** PP **45**.

Clark R. B. and Zeto S. K. **(2000**) "Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants" **J. Plant Nutr., 23,** pp **867.**

Clark R. L. and P. S. Shackelford. **(1975)** "Methods for Testing the Dynamic Mechanical Response of Solid Foods" **Transactions of the ASAE., 16,** pp **11.**

Coupland J. and Saggin, N. R. **(2003)** "Ultrasonic sensors for the food industry" **Advances in food and nut, Res, 45,** pp **102.**

Crisosto C. **(1996) "**Optimum procedures for ripening stone fruit Management of Ripening Fruit" **Postharvest Horticulture Series., 9,** pp **28.**

Duk J. A. (1982). Ecosystematic data 0n medicinal plants, pp. 13-23, in: "**cultivation and utilization of medicinal plants**" C.K., Atal. and B.M., Kapur, eds Council Sci. & Indus. Res. Jammu-Tawi.

Drew E. A., Murray R. S., Smith S.E. **(2006)** "Functional diversity of external hyphae of AM fungi: ability to colonise new hists is influences by fungal species, distance and soil conditions" **Applied soil Ecology., 32,** pp **350.**

Entry J. A., Rygiewicz P. T., Watrud L. S. and Donnelly P. K. **(2002)** "Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas" **Adv. Environ. Res., 7,** pp **123.**

Filippo L., Moretti A. and Lovat A. **(2002)** "Seed yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativ L.* and *Nigella damascene L.* Indust" **Crops prod., 15,** pp **59.**

Gallego J. A. L, Elvira S. and Rodriguez G. **(2003)** "A power ultrasonic technology for deliquoring" **Ultrasonic, 4,** pp **225.**

Garg N. and Chandel S. **(2011)** "Effect of mycorrhizal inoculation on growth, nitrogen fixation and nutrient uptake in *Cicer arietinum* (L.) under salt stress" **Turk. J. Agric. For., 35,** pp **1.**

Gavito M. E. and Miller M. H. **(1998)** "Changes in mycorrhiza development, dry matter partitioning and yield of maize" **Plant Soil., 199,** pp **177.**

Gensel P. G. **(2008)** "The ealiest land plant" **Ann. Rev. Ecol. Evol .Syst., 39,** pp **459.**

Ghosheh A. O., A. A. Houdi and Crook A. P. **(1998)** "High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinines and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.)" **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysi., 19,** pp **757.**

Govindarajulu M., Pfeffer P. E., Jin H., Abubaker J., Douds D. D., Allen J. A., Bucking H., Lammers P. J. and Shachar-Hill Y. **(2005)** "Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis" **Nature, 435,** pp **819.**

Graham J. H. and Syversen J. P. **(1984)** "influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of roots of two citrus rootstocks" **New Phytol., 97,** pp **277.**

Gryndler M. (2000). Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms, pp 239–262, In: "**Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function**", Kapulnik Y. and Douds D. D. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Gupta M., Prasad L., Ram M. and Kumar S. **(2002)** "Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasiculatum* on the essential oil yield related character and nutrient acquisitioin in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions" **J. of Bio. Resource Techno., 81,** pp **79.**

Hajiboland R., Aliasgharzad N. and Barzeghar R. **(2009)** "Phosphorus mobilization and uptake in mycorrhizal rice (*Oryza sativa* L.) plants under flooded and non-flooded conditions" **Acta agr. Slovenica., 93,** pp **153.**

Hao Z., Fayolle L., Van Tuinen D., Glaninazzi-Pearson V. and Gianinazzi S. (2009). mycorrhiza reduce development of nematode vector og grapevine fanleaf virus in soils and root systems, pp100-1001, in: "**boudon-pa fieu E (ed) Extended abstract 16th meeting of ICVG**", Dijon, France.

Harrier L. A. and Watson C. A. **(2004)** "The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bio protection of plants against soil-borne pathogens in organic and /or other sustainable farming systems" **Pest. Manay. Sco., 6o,** pp **149.**

Heggo A., angel J. S. and Chaney R. L. **(1990)** "Effects of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans soil biol" **Biochem, 22,** pp **865.**

Hromadkova Z. and Ebringevova A. **(2003)** "Ultrasonic extraction of plant materials-investigation of hemicelluloses releas from buckwheat hull" **Ultrasonics sonochem.**, **10,** pp **33.**

Ishimori Y., Karube I. & Suzuki S. **(1981)** "Acceleration of immobilized alpha-chymotrypsin activity with ultrasonic irradiation" **J. Mol Catal., 12,** pp **253.**

Jakobsen I. **(1987)** "Effect of VAM mycorrhiza and harvest index on field grown pea" **Plant Soil., 98,** pp **407.**

Jakobsen I., Gazey C. and Abbott I. K. **(2001) "**Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores**" New Phytol., 149,** pp. **95.**

Jakobsen I., Chen B. D., Munkvold L., Lundsgaard T. and Zhu Y. G. **(2005) "**Contrasting phosphate acquisition of mycorrhizal fungi with that of root hairs using the root hairless barley mutant" **Plant Cell Environ., 28,** pp **928.**

Jambrak A. R., Mason T. J., Lelas V., Herceg Z., Herceg L. J. I. **(2008)** "Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions" **Journal of Food Engineering., 86,** pp **281.**

Johansson J. F., Paul L. R. and Finlay R. D. **(2004)** "Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture" **FEMS Microbiol. Ecol., 48,** pp. **1.**

Jones M. D., Smith S. E. **(2004) "**Exploring fuctional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualism?" **Can J Bot., 82,** pp **1089.**

Kapoor R., Giri B. and Mukerji K. G. **(2002a) "**Glomus macrocarpum: a potential bioinoculant ta improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.) and carum (*Trachyspermum ammi Sprague*)" **World Journal of Microbiology and Biotechnology., 18,** pp **463.**

Kapoor R., Giri B. and Mukurji K. G. **(2004)** "Improved growth and essential oil yield and quality in *foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer" **Bioresource Technology., 93,** pp **307.**

Karagiannidis N., Thomidis T., Lazari D., panou-Filotheou E. and Karagiannid0u C. **(2011)** "Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants" **Scientia Hulticulturae., 129,** pp **329.**

Khan M. T. H., Shaila J. and Choudhuri M. S. K. **(1998)** "Clinical trials on male normoten sive subjects and female UTI. Patients treated with the seeds of *Nigella sativa L.*" **Hmdard Medicus., 41,** pp **56.**

Khan S. A. and Chatterjee B. N. **(1982)** "Growing green gram whit minimum tillage" **Indian J. Agri, Sci., 52,** pp **117.**

Khurana K. L., Balvinder K., Sudhir K., Angu M., Kumar B., Khanna S. and Manja A. **(1996)** "Effect of herbal galactogogue payapro on milk yield inlactating buffaloes" **Inter. J. Animal Sci., 11,** pp **239.**

Laheurte F., Leyval I. and Berthelin J. **(1990)** "Root exudates of maize, pine and beech seedlings influenced by mycorrhizal and bacterial inoculation" **Symbiosis., 9,** pp **111.**

Lal R. **(2009) "**Soil degradation as a reason for inadequate human nutrition" **Food Security., 1,** pp **45.**

Lee A. and Bayyaraj D. j. **(1986)** "Effect of soil incoulation with vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi and either phosphate rock dissolving bacteria or thiobacilli on dry matter production and uptake of phosphorus by tomato plants NZ**" J .Agric. Res., 29,** pp **525.**

Li X. L. and Christie P. **(2001)** "Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn-contaminated soil" **Chemosphere., 42,** pp **201.**

Loomis W. D. and Corteau R. **(1972)** "Essential oil biosynthesis" **Recently Advance Phytochem., 6,** pp **147.**

Lo´pez P., Sa´nchez A. C., Vercet A. and Burgos J. **(1997)** "Thermal resistance of tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase at physiological pH" **Zeitschrift fu¨ r lebensmitteluntersuchungund-forschung.**, **204,** pp **150.**

Malhotra S. K. **(2001)** "Research activities" **Seed Spices Newslrtter., 1**, pp **6.**

Malhotra S. K. **(2002)** "Nigella cultivation practices (in Hindi)" **NRCSS, Ajmer. Extension Folder No. 7,** pp **18**.

Malhotra S. K., (2004) "Underexploited seed spices. In Spices and Aromatic Crops", J. Singh (ed) University Press, Hyderabad, India (in press).

Marulanda-Aguirre A., Azcon R., Ruiz-Lozano J.M. and Aroca R. **(2008)** "Differential effects of a bacillus megaterium strain on lactuca sativa plant growth depending on the origin of the arbucular mycorrhizal fungus coinoculated: physiologic and biochemical traits" **J. Plant Growth Regul., 27,** pp **10.**

Maruland A., Barea J. M. **(2009)** "Stimulation of plant growth and drought tolerance by native micro organisnms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness" **j. Plat Growth Regw., 28,** pp **115.**

Mason T. J. (1998). Power ultrasonic food processing, pp87-96, In: "The way forward" , Povey M. J. W.and potter L.

Mizrach A., Galili N., Ganmor S., Flitsanov U. and Prigozin I. **(1996)** "Models of ultrasonic parameters to assess avocado properties and shelf life" **Journal of Agricultural Engineering Research, 65,** pp **261.**

Morsi N. M. **(2000)** "Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria" **Acta Microbiologica Polonica., 49,** pp **63.**

Mouhajir F., Pedersen J. A., Rejdali M. and G. H. N. Towers. **(1999)** "Antimicrobial thymohydroquinones of Moroccan *Nigella sativa* seeds detected by electron spin resonance" **Pharmaceutical Biology., 37,** pp **391.**

Muckle G. E. (2003). Ph. D. thesis. The functioning of arbuscular mycorrhizal fungi in land under different agricultural management intensities. Department of Animal and Plant Sciences, Sheffield University.

Ortus I. and Harris P. J. **(1996**) "Enhancement uptake of phosphorus by Mycorrhizal sorghum plant as influenced by forms of nitrogen" **Plant and Soil**, **184,** pp **225.**

Ortas I. **(2008)** "The effect of mycorrhiza inoculation on forage and non-forage plant growth and nutrient uptake under field conditions" **Options Mediterraneennes, Series A**, **79,** pp **463.**

Panwar J. and Tarafdar J. C. **(2006)** "Arbuscular mycorrizal fungal dynamics under Mitragyna parvifolia (Roxb.) Korth. In Thar Desert" **Applied Soil Ecology, 34,** pp **200.**

Peterso R. L. and Massicotte H. B. **(2004) "**Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces" **Can. J. Bot., 82,** pp **1074.**

Pharudi J. A., (2010), PhD. Thesis, "Effect of mycorhizal inoculation and phosphorus levels on growth and yield of wheat and maize crops grown on a phosphorus deficient sandy soil" Agri. depart. Stellenbosch University.

Pond E. C., Menge J. A. and Jarrell W. M. **(1984)** "Improved growth of tomato in salinized soil by vesicular-arbuscular mycoothizal fungi collected from saline soils" **mycologia, 76,** pp **74.**

Povey M. J. W. and Wilkinson J. M. **(1980)** "Application of ultrasonic pulse-echo techniques to eggalbumin quality testing a preliminary report" **British Poultry Science, 21,** pp **489.**

Prajapati N. D., Purohit S. S., Sharma A. And Kumar T. **(2003)** "A hand book of medicinal plants" **Agribios India, Jodhpur, India,** PP **297.**

Rabie G. H. and Almadini A. M. **(2005) "**Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress" **Afr. J. Biotechnol., 4,** pp **210.**

Rahman W. U. **(1996)** "Damage and control of *Heliothis armigera* on *Nigella sativa L.* Crop" **Pakistan J., 44,** pp **12.**

Raiesi F., Ghollarata M. **(2006) "**Interactions between phosphorus availability and an AM fungus (*Glomus intraradices*) and their effects on soil microbial respiration, biomass and enzyme activities in a calcareous soil" **Pedobiologia., 50,** pp **413.**

Rasouli- Sadaghiani M., Hassani A., Barin M., Rezaee Danesh y. and Sefidkon F. **(2010)** "Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) fungi on growth, essential oil production and nutrients uptake in basil" **J. Medic. Plants Res, 4,** pp **2222.**

Rathee P. S., Mishra SH and kaushal R. **(1982)** "Anti microbial activity of essential oil, fined oil and unsaponifiable matter of *Nigella sative L*." **Indian, J. Pharmaceutical Sci., 44,** pp **8.**

Ratti N., Kumar S., Verma H. N and Gutam S. P. **(2001)** "Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to cymbopogon martini var. motia by rhizobacteria, AMF and azospirillum inoculation" **Microbiol. Res., 156,** pp **145.**

Redecker D., Kodner R., Graham L. E. **(2000)** "Glomdlean fungi from the Ordovician" **Sci. 289,** pp **1920.**

Renyw Taylor T. N., Hass H., Kerp H. **(1991)** "Four hundred million–year–old vesicular arbuscular mycorrhizae" **Proc. Natl. acad. Sci. usa., 91,** pp **11841.**

Rigou L. and Mignard E. **(1994)** "Factors of acidification of the rhizosphere of mycorrhiza plants: measurement of p Co2 in the rhizosphere" **Acta bot. Gall., 141,** pp **533.**

Roth-Nebelsick A. and konrad W. **(2003)** "Assimilation and transpiration capabilities of rhyniophytic plants from the lower Devonian and their implications for paleoatmospheric co2 concentration. Palaeogeogr" **palaeoclimatol. Palaeoecol., 202,** pp **153.**

Ryan M. H. and Angus J. F. **(2003)** "Arbuscular mycorrhizas in wheat and field pea crops on a low P soil: increased Zn uptake but no increase in P uptake or yield" **Plant Soil., 250,** pp **225.**

Ryan M. H., van Herwaarden A. F., Angus J. F. and Kirkegaard J. A. **(2005)** "Reduced growth of autumn-sown wheat in a low P soil is associated with high colonization by arbuscular mycorrhizal fungi" **Plant Soil., 270,** pp **275.**

Sala F. j. and Borgos J. **(1996)** "Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In: Gold GW(ed). In New Methods of Food Perseveration" **An Aspen Publication., 17,** pp **202.**

Saleh Al-Garni S. M. **(2006)** "Increased heavy metal tolerance of cowpea plants by dual inoculation of an arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixer *Rhizobium* bacterium" **Afr. J. Biotechnol., 5,** pp **132.**

Salem M. L. and Hossain M. S. **(2000) "**In vivo acute depletion of CD8 (+) T cells before murine cytomegalovirus infection upregulated innate antiviral activity of natural killer cells" **International Journal of Immunopharmacology., 22,** pp **707.**

Salomi M. J., Nair S. C., Jayawarhanah K. K., Vargese C. D. and Panikkar K. R. **(1992)** "antitumour principles from *nigella sative L*. seeds" **cancer let, 63,** pp **41.**

Sanchez–Diaz M. and. Honrubia M. **(1994)** "Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. In: Gianizazzi, S.and Schuepp. H (eds.) Impaet of Arbuscul Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems" **Birkhauser verlag. Basel/switzer land,** pp **170.**

Sannazzaro A. I., Ruiz O. A., Alberto E.O. and Menendez A. B. **(2006)** "Alleviation of salt stress in *Lotus glaber* by *Glomus intradices*" **Plant Soil., 285,** pp. **279.**

Schmidt P., Rosenfeld E., Millner R. and Schellenberger A. **(1987)** "Effects of ultrasound on the catalytic activity of matrix-bound glucoamylase" **Ultrasonics, 25,** pp **295.**

Schnepf A., Roose T. and Schweiger P. **(2008)** "Impact of growth and uptake patterns of arbuscular mycorrhizal fungi on plant phosphorus uptake a modelling study" **Plant Soil., 312,** pp. **85.**

Shafiur Rahman M. **(2000)** "Light and sound in food preservation" **Horticulture and food research. J. Institute of New Zealand., 3,** pp **669.**

Sharma A. K. and Johri B. N. **(2002)** "Arbuscular mycorrhizae, interaction in plants, rhizosphere and soils" **Science Publisher., 312,** pp **123.**

Shenoy V. V. and Kalagudi G. M. **(2005)** "Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping" **Biotechnol. Adv., 23,** pp **501.**

Shimomura S. **(1990)** "The effects of ultrasonic irradiation on sprouting radish seed" **Ultrasonic Symposium Proceedings, 3,** pp **1665.**

Smith F. A. and Smith S. E. **(1996)** "Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the " arbuscular" (VA) mycorrhizal symbiosis" **AdV. Bot. Res., 22,** pp **43.**

Smith P. K., Krohn R. I., Hermanson G. T., Mallia A. K., Gartner F. H., Provenzano M. D., Fujimoto E. K., Goeke N. M., Olson B. J., Klenk D. C. **(1985)** "Measurement of protein using bicinchoninic acid" **Analytical Biochemistry, 150,** pp **70.**

Smith S. E. and Read D. J. **(1997)** "Mycorrhizal symbiosis" **Academis press, San Diego California**, pp **126.**

Smith S. E. and Read D. J., **(2008)** "Mycorrhizal symbiosis 3rd Edition", Academic Press, Elsevier, Amsterdam.

Smith S. E., Smith F. A. and Jakobsen I. **(2004)** "Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is

not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake" **New Phytol., 162,** pp **511.**

Suslick K. S., (1988) "Ultrasound: Its physical, chemical and biological effects", VCH, New York.

Suslick K. S. **(1990)**, "**Sonochemistry Science**", pp.**247**

Takruri H. R. and Damah M. A. **(1993)** "Study of nutritional value of Black cumin seeds(N.sativa)" **J. Science of Food and Agri, 76,** pp **10.**

Tawaraya K., Naito M. and Wagatsuma T. **(2006)** "Solubilization of insoluble inorganic phosphate by hyphal exudates of arbuscular mycorrhizal fungi" **J. Plant Nutr., 29,** pp **657.**

Tibbett M. and Sanders F. E. **(2002)** "Ectomycorrhizal symbiosis can enhance plant nutrition through improved access to discrete organic nutrient patches of high resource quality" **Ann. Bot. (London)., 89,** pp **783.**

Toncer O. and Kizil S. **(2004)** "Effect of seed rate on agronomic and technologic characters of Nigella sativa L" **International Journal of Agriculture and Biology, 6,** pp **59.**

Turk M. A., Assaf T. A., Hameed K. M. and Tawaha A. M. **(2006)** "Significance of Mycorrhizae" **World J. Agric. Sci., 2,** pp **16.**

Usten G. L., Cekin N. and Civelekoglu. **(1990)** "Investigation of the technological properties *of Nigella sativa L.*(Black cumin) seed oil" **SAOCS, 67,** pp **958.**

Venkateshwar Rao G. C., Manoharachary C., Kunwari I. K. and Rajeshwar Rao B. R. **(2000)** "Arbuscular mycorrhizal fungi associated with some economically important spices and aromatic plant" **Philippine journal of Science., 129,** pp **5.**

Vilkhu K., Mawson R., Simons L. and Bates D. **(2007)** "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review**" Innovative Food Science and Emerging Technologies,** 9 (2008): 161-169.

Widada J., Damarjaya D. I. and Kabirun S. **(2007)**, "**The interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria on the growth and nutrients uptake of sorghum in acid soil**", First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization, Vela zquez E and Rodriguez-Barrueco C, Springer, pp.**173**

Whipps J. M. **(2004)** "prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of pathogen" **Can. J. Bot., 82,** pp **1198.**

Worthen D. R., Ghosheh O. A. and Crooks P. A. **(1998)** "The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of black seed, *Nigella sativa L.*" **Anticancer Research, 18,** pp **1527.**

Yaldagard M., Mortazavi S. A. and Tabatabaie T., (2008) "Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barely seed: optimization of method by the Taguchi approach", The Institute of Brewing & Distilling.

Yousef M. M., Abdienc A. M., Khattab R. M. and Darwish S. A. **(1998)** "Effect of feeding *Nigella sative L*. cake on productive and reproductive performance of buffaloes" **Egyptiany. Nutr. Feeds., 1,** pp **73.**

Abstract

It was aimed to study the interactive effects of mycorrhizal fungi and ultrasonic waves on quantitative and qualitative characteristics of *Nigella sativa L.*. A field experimental was conducted in the research farm of agriculture collage of Shahrood University in 1391. The experiment was as factorial on the base on randomized complete block design with 3 replications. Treatment consisted of mycorrhizal fungi, in tree levels of non-inoculated (M1), recommended amount of inoculation (M2) and twice recommended inoculation (M3) and ultrasonic waves, in five levels including zero (F1), 3 (F2), 5 (F3), 7 (F4) and 9 minutes (F5) exposure to ultrasonic waves with a frequency of 42 kHz. Results showed that the interaction of mycorrhiza and ultrasonic waves was significant for stem height, number of capsules per plant, essential oil percentage and seed oil. Grain yield, weight of 1000 grain, root colonization, biological yield, harvest index and essential oil yield was significantly affected by mycorrhizal treatment. Plant inoculation with mycorrhiza had the highest increase. It was found no difference between inoculation levels. Also mycorrhiza affected essential oil yield and the most significant increase was found for twice recommended inoculation treatment. Ultrasonic waves increased grain yield, biological yield, weight of 1000 grains and essential oil yield. The highest positive affect was appeared for 5 and 7 minutes ultrasonic exposure. The number of seeds per capsule in this experiment was not effect by treatments. It was concluded that 5 and 7 minutes exposure to ultrasonic waves can increase the growth and yield of black seed.

Key word: mycorrhiza, ultrasonic, black seed.

Shahrood University

Faculty of Agriculture

Department of Agronomy

M.Sc. Thesis

Effect of mycorrhiza and ultrasonic waves on growth and yield of black seed (*Nigella sativa* L.)

Shima Karimi Fard

Supervisors:
Dr. M. Gholipoor

Advisors:

Dr. A. Gholami

H. Ariyani Mohammadie

2013