

تأثیر انواع سامانه‌های پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی بذر و خصوصیات مورفولوژیکی گیاهچه دو اکوتیپ سیاهدانه

شقایق کلهر^۱، ایرج اله‌دادی^{۲*}، الیاس سلطانی^۳، محمدرضا خانی^۴، شیوا اکبری^۵

۱. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی (ابوریحان)، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی (ابوریحان)، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۳. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی (ابوریحان)، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۴. پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۵. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی (ابوریحان)، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی و سبز شدن بذرهای گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، آزمایشی در سال ۱۴۰۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار روی دو اکوتیپ درگز و یزد گیاه سیاهدانه انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تیمار شاهد (بدون تیمار با پلاسما)، تیمار پلاسمای سرد با پایه تخلیه گلایدین آرک در ۳۰ ثانیه، ۱، ۲ و ۳ دقیقه روی اکوتیپ درگز و تیمار شاهد، تیمارهای پلاسمای رادیو فرکانسی (RF) با توان ۵۰ وات- ۵ دقیقه، توان ۵۰ وات- ۱۵ دقیقه و توان ۱۰۰ وات- ۵ دقیقه و تیمار پلاسمای سرد بر پایه تخلیه سد دی‌الکتریک (SDBD) در ۱۰، ۱۵ و ۲۰ ثانیه روی اکوتیپ یزد بود. نتایج نشان داد که در اکوتیپ درگز، تیمار گلایدین آرک در ۳ دقیقه با ۶۷/۵ درصد و در اکوتیپ یزد، تیمار RF با توان ۵۰-۵ دقیقه با ۶۸/۵ درصد بیشترین درصد جوانه‌زنی را حاصل نمودند. در اکوتیپ درگز، تیمار گلایدین آرک در ۳۰ ثانیه و در اکوتیپ یزد، تیمار SDBD در ۲۰ ثانیه بیشترین طول گیاهچه را ایجاد کرد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پلاسمای سرد موجب بهبود خصوصیات جوانه‌زنی و مورفولوژی گیاه سیاهدانه در هر دو اکوتیپ شد.

کلیدواژه‌ها: پلاسمای رادیو فرکانسی، تخلیه سد دی‌الکتریک، درصد جوانه‌زنی، گلایدین آرک، گیاهچه.

مقدمه

جایگاه گیاهان دارویی بدین سبب که یکی از منابع با ارزش برای استفاده از ترکیب‌های مؤثره مورد نیاز در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی می‌باشند، حائز اهمیت است. گیاه دارویی سیاهدانه با نام علمی *Nigella sativa* L. از خانواده آلانگان (Ranunculaceae)، بومی نواحی مدیترانه‌ای، غرب آسیا و خاورمیانه است و در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران کشت می‌شود. اکوتیپ‌های مختلفی نظیر اکوتیپ‌های مشهد، اصفهان، سمیرم، اراک، قزوین و محلات در ایران کشت می‌شوند (Rezaei-Chiyaneh et al., 2018). دانه‌ها و روغن گیاه سیاهدانه مدت‌هاست در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. سیاهدانه ارزش غذایی بالایی دارد که می‌توان آن را به وجود مقادیر قابل توجهی پروتئین گیاهی، فیبر، مواد معدنی و ویتامین‌ها مرتبط دانست (Rezaei-Chiyaneh et al., 2018).

جوانه‌زنی بذر مرحله مهم، پیچیده و پویایی از رشد گیاه است و می‌تواند از طریق تأثیری که بر استقرار گیاهچه دارد عملکرد را بهبود بخشد. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان‌دهنده آن است که می‌توان با استفاده از تیمارهای افزایش‌دهنده قدرت بذر، به جوانه‌زنی سریع، ظهور یکنواخت و استقرار قوی گیاه دست یافت (Farooq & Azam, 2006). جوانه‌زنی تحت تأثیر عوامل

مختلفی از جمله دما و پتانسیل آب قرار می‌گیرد. دما، آب و اکسیژن از عوامل محیطی مهم و تأثیرگذار بر جوانه‌زنی بذر هستند (Soltani *et al.*, 2017). یکی از مهم‌ترین مراحل فنولوژیک گیاه، سبز شدن است که نشان‌دهنده درجه موفقیت سیستم‌های زراعی در تولید است. سبز شدن به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی شامل رطوبت خاک، شوری، عمق کاشت و دما قرار دارد (Soltani *et al.*, 2006).

پلازما به‌عنوان گاز یونیزه خنثی شناخته می‌شود و چهارمین و بالاترین حالت انرژی ماده پس از جامدات، مایعات و گازها است (Yodpitak *et al.*, 2019). تیمار با پلازما سرد روشی پیشرفته و جدید برای بالا بردن سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور، تغییر خواص آبنوشی بذرها به گونه‌ای که سبب تسریع جوانه‌زنی و عملکرد بیشتر آن‌ها شود بوده و افزایش عمر انبارمانی بذور را در پی دارد (Randeniya & Groot, 2015). در فرایند تولید پلازما سرد، گازها تحت تأثیر میدان الکتریکی، یک یا چند الکترون از دست داده و در اثر یونیزاسیون، یون‌ها و گونه‌های فعال هیدروکسیل، اکسیژن، اوزون، پراکسید هیدروژن و همچنین نور ماوراء بنفش بوجود می‌آیند (Olatunde *et al.*, 2019). هنگامی که بذر تحت تأثیر این اتم‌ها و رادیکال‌های آزاد ایجاد شده قرار می‌گیرد، تغییراتی در پوسته بذر، خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی آن ایجاد می‌شود. در فرایند پلاسمادهی بذر، حمله رادیکال‌های اکسیژن و بمباران یونی سبب ساییدگی پوسته بذر می‌شود. همچنین خاصیت آبدوستی پوسته بذر زیاد شده و در نهایت جذب آب توسط بذر افزایش می‌یابد (Ling *et al.*, 2014).

در سال‌های اخیر از فن آوری پلازما سرد در تحقیقات کشاورزی استفاده شده است و اثر مثبت آن در جوانه‌زنی بذور به اثبات رسیده است (Thirumdas, 2018). در یک پژوهش، بهبود جوانه‌زنی و افزایش محتوای فیتوشیمیایی زیستی برنج قهوه‌ای جوانه زده تحت تأثیر تیمار پلازما سرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پس از تیمار بهینه پلازما، شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه افزایش یافت (Yodpitak *et al.*, 2019). همچنین در پژوهشی دیگر که از الکترو دوقلو با لبه تیز به جای الکترو سوزنی با شعاع انحنای کوچک استفاده شد، نشان داده شد که پلازما سرد اتمسفری از طریق میدان متغیر، تخلیه کرونا نسبت به سد دی‌الکترونیک برای کاربردهای مختلف را افزایش داد (Khamseen *et al.*, 2016). **گزارش شده است که پیش‌تیمار با پلازما سرد، منجر به بهبود جوانه‌زنی بذر مارچوبه وحشی گردید.** این پیش‌تیمار با مواجهه بذر به مدت ۱ دقیقه با پلازما سرد، منجر به افزایش جذب آب توسط بذر و افزایش ۱۵ درصدی جوانه‌زنی گردید و زمان لازم برای دستیابی به نصف حداکثر درصد جوانه‌زنی نیز به مدت ۵ روز کاهش یافت (Porto *et al.*, 2019). در مطالعه‌ای تأثیر آب فعال شده با پلازما بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و رشد اولیه ساقه‌چه بذر تربچه بررسی شد که مشخص شد در بذرهاى تربچه تیمار شده با آب فعال شده با پلازما در مدت زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری در سرعت و درصد جوانه‌زنی مشاهده شد (Shetab Bushehri *et al.*, 2019). در پژوهشی تأثیر پیش‌تیمار بذرهاى سویا با پلازما سرد (۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ وات به مدت ۱۵ ثانیه) بررسی و نتایج نشان داد که تیمارهای پلازما تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه داشتند و تیمار ۸۰ وات بیشترین تأثیر را داشت (Ling *et al.*, 2014). اثر پلازما غیرحرارتی بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی سویا نشان داد که مواجهه بذر سویا با تیمار پلازما باعث بهبود کیفیت جوانه‌زنی و ساختار بذر شد (Piza *et al.*, 2018).

با توجه به اهمیت خصوصیات جوانه‌زنی و کیفیت گیاهچه در حصول عملکرد، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر انواع مختلفی از سامانه‌های پلازما سرد بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و مورفولوژیکی گیاهچه دو اکوتیپ گیاه دارویی سیاهدانه انجام پذیرفت.

روش‌شناسی پژوهش

آزمایش در سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه پلاسما سرد پژوهشکده لیزر و پلاسما دانشگاه شهید بهشتی و آزمایشگاه دانشکده فناوری کشاورزی (پردیس ابوریحان) دانشگاه تهران واقع در شهرستان پاکدشت اجرا شد. این آزمایش روی دو اکوتیپ درگز و یزد سیاهدانه در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد.

تیمارهای آزمایش شامل تیمار شاهد (بدون تیمار با پلاسما)، تیمار پلاسما سرد با پایه تخلیه گلایدین آرک (Ga) در چهار زمان ۳۰ ثانیه، ۱، ۲ و ۳ دقیقه روی اکوتیپ درگز و همچنین تیمار شاهد، تیمارهای پلاسما رادیو فرکانسی (RF)^۱ با توان ۵۰ وات در دو بازه ۵ و ۱۵ دقیقه و توان ۱۰۰ وات در بازه ۵ دقیقه و تیمار پلاسما سرد بر پایه تخلیه سد دی الکتریک (SDBD)^۲ با زمان‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ ثانیه روی اکوتیپ یزد بود.

در سامانه تخلیه پلاسما گلایدین آرک، تخلیه با اعمال اختلاف پتانسیل بین دو الکترود دور از هم که در میان آنها گاز جریان داشت و سبب به وجود آمدن یک قوس الکتریکی میشد، ایجاد گردید. قوس الکتریکی ایجاد شده آغازین، توسط جریان گاز از خارج دو الکترود دور از هم به سمت باریک‌ترین ناحیه پایین الکترود جریان می‌یافت (شکل ۱-الف).

در سامانه پلاسما رادیو فرکانسی (RF)، در فشار پایین با اعمال اختلاف پتانسیل الکتریکی، محیط فعال پلاسما تشکیل شد. الکترون‌های موجود در محیط پلاسما باعث تولید الکترون‌های دیگر، یون‌ها، رادیکال‌ها و گونه‌های فعال شده که قادر به فرآوری سطح مورد نظر بودند. پلاسما بین دو الکترود موازی یک الکترود زمین شده و یک الکترود متصل شده به مولد RF تولید شده و جفت‌شدگی خازنی بین دو الکترود باعث تبدیل گاز به پلاسما میشد (شکل ۱-ب).

در سامانه پلاسما سرد بر پایه تخلیه سد دی الکتریک، عمل تخلیه بین دو الکترود که حداقل یکی از آنها با لایه سد دی الکتریک پوشانده شده است، صورت گرفت. این تخلیه مابین دو الکترود با اعمال ولتاژ بالای متناوب اتفاق افتاد و وجود یک لایه سد دی الکتریک موجب عدم عبور جریان شدید میان دو الکترود و وقوع جرقه شد (Olatunde *et al.*, 2019). در نهایت پلاسما سرد بصورت جریانی از الکترون و پروتون از قسمت نازل مانند دستگاه خارج گردید. سپس بر اساس زمان‌های تعریف شده بذرها موجود در دستگاه در معرض جریان الکترون و پروتون شعله پلاسما قرار گرفتند (شکل ۱-ج).



شکل ۱. الف: تخلیه پلاسما گلایدین آرک. ب: سامانه پلاسما رادیو فرکانسی. ج: پلاسما بر پایه تخلیه سد دی الکتریک

بذور از شرکت پاکان بذر تهیه شدند. پس از اینکه بذرها تحت تابش پلاسما سرد قرار گرفتند ۲۰ عدد بذر از هر تیمار درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متر قرار داده شد و در هر پتری‌دیش از دو لایه کاغذ صافی واتمن در زیر بذور استفاده شده بود. برای تأمین رطوبت در طول جوانه‌زنی، ۶ سی‌سی محلول آب مقطر و قارچ‌کش کاربوکسین تیرام ۷۵ درصد (پودر و تابل)

^۱ Radio frequency

^۲ Surface dielectric barrier discharge

با غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون به محیط رشد بذرها افزوده شد و در ادامه نیز در صورت نیاز جهت حفظ رطوبت از محلول ذکر شده به پتری‌دیش‌ها اضافه شد. سپس پتری‌دیش‌ها را داخل اتاقک جوانه‌زنی با شرایط دمایی 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی با رطوبت ۴۰ درصد گذاشته و یادداشت‌برداری روزانه به مدت دو هفته انجام شد و تعداد بذره‌های جوانه‌زده ثبت گردید. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه حداقل ۲ میلی‌متر بود که به‌صورت روزانه تا زمانی که جوانه‌زنی هفت روز متوالی صفر شود، ادامه داشت (Soltani & Maddah, 2010). برای تعیین سرعت جوانه‌زنی از رابطه زیر استفاده شد (Ghaderifar *et al.*, 2011).

معادله (۱):
 زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی / ۱ = سرعت جوانه‌زنی

مؤلفه‌های جوانه‌زنی با کمک نرم‌افزار Germin^{v2} محاسبه گردید (Soltani & Maddah, 2010).

به‌منظور بررسی و ارزیابی گیاهچه پس از پایان آزمون جوانه‌زنی استاندارد تعداد ۱۰ گیاهچه عادی به‌طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و پس از اندازه‌گیری طول گیاهچه به وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر و وزن تر گیاهچه‌ها به وسیله ترازوی دقیق با دقت $0.01 \pm$ گرم تعیین و پس از خشک کردن گیاهچه‌ها به وسیله آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، با استفاده از ترازوی دقیق وزن خشک نیز با دقت $0.01 \pm$ مشخص گردید.

برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SAS 9.4.1 و برای مقایسات میانگین از آزمون Duncan در سطح احتمال خطای ۵ درصد استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 انجام شد.

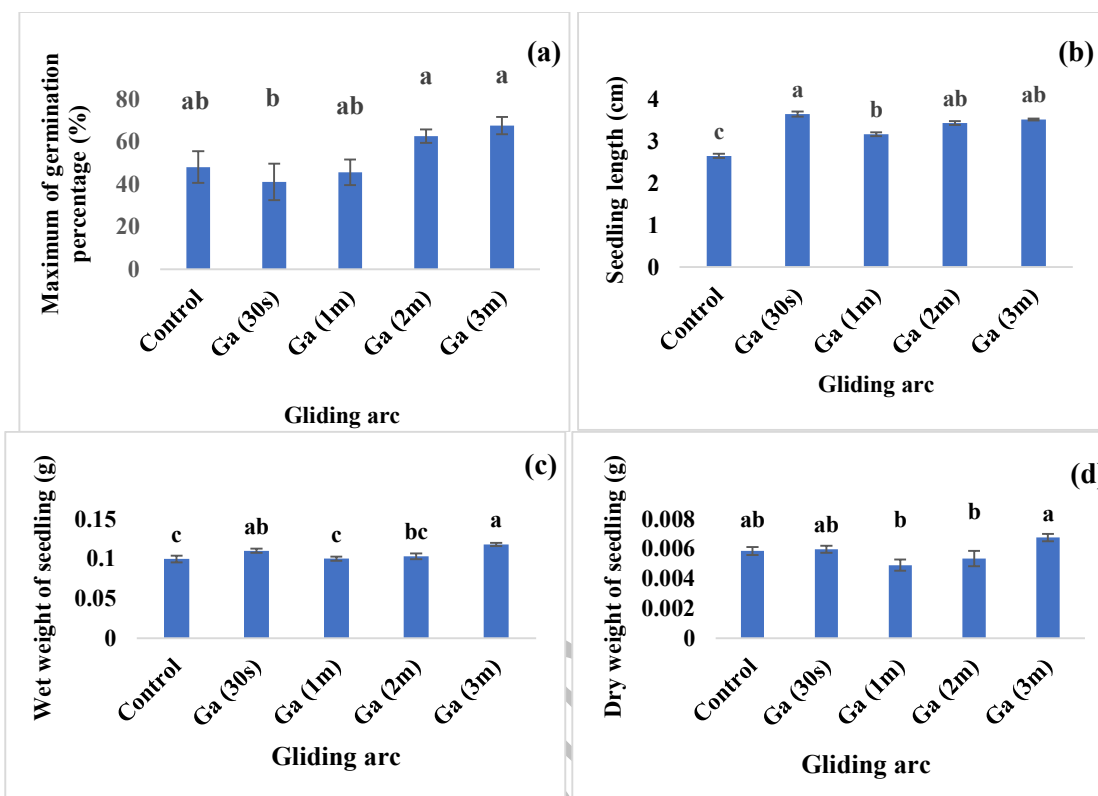
یافته‌های پژوهش و بحث

نتایج نشان داد که اثر پلاسمای گلایدین‌آرک بر حداکثر درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه اکوتیپ درگز سیاهدانه، در سطح پنج درصد و بر طول گیاهچه و وزن تر گیاهچه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اکوتیپ درگز سیاهدانه، تیمارهای گلایدین‌آرک ۳ و ۲ دقیقه به ترتیب با ۶۷/۵ و ۶۲/۵ درصد، بیشترین درصد جوانه‌زنی را حاصل نمودند (شکل ۲a). گلایدین‌آرک با زمان ۳۰ ثانیه، با ۳/۶۴ سانتی‌متر و شاهد با ۲/۶۵ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین طول گیاهچه را در اکوتیپ درگز حاصل نمود و با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۲b). تیمار گلایدین‌آرک در زمان ۳ دقیقه با ۰/۱۱۸ گرم و تیمارهای گلایدین‌آرک در ۱ دقیقه و شاهد با ۰/۱ گرم به ترتیب بیشترین و کمترین وزن تر را در اکوتیپ درگز سیاهدانه حاصل نمودند (شکل ۲c). بیشترین وزن خشک گیاهچه اکوتیپ درگز سیاهدانه، در تیمار گلایدین‌آرک در زمان ۳ دقیقه با ۰/۰۰۶۸ گرم و کمترین میزان در تیمار گلایدین‌آرک در ۱ دقیقه با ۰/۰۰۴۹ گرم مشاهده شد (شکل ۲d).

۱. تجزیه واریانس برخی صفات جوانه‌زنی و مورفولوژیکی گیاهچه اکوتیپ درگز سیاهدانه در آزمایشگاه تحت تأثیر سطوح مختلف پلاسمای گلایدین‌آرک

S.O.V	Mean Squares					
	Maximum germination percentage	Germination	Uniform germination	Seedling height	Wet weight seedling	Dry weight seedling
Cold Plasma (C Arc)	0.03977 ^a	0.00049 ^t	0.0133 ⁿ	0.6234	0.00024	0.000000
Error	0.01231	0.00038	0.0077	0.053	0.0000	0.000000
CV (%)	6.47	6.01	11.87	7.03	5.82	4.37

I. به ترتیب به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح پنج درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری است.



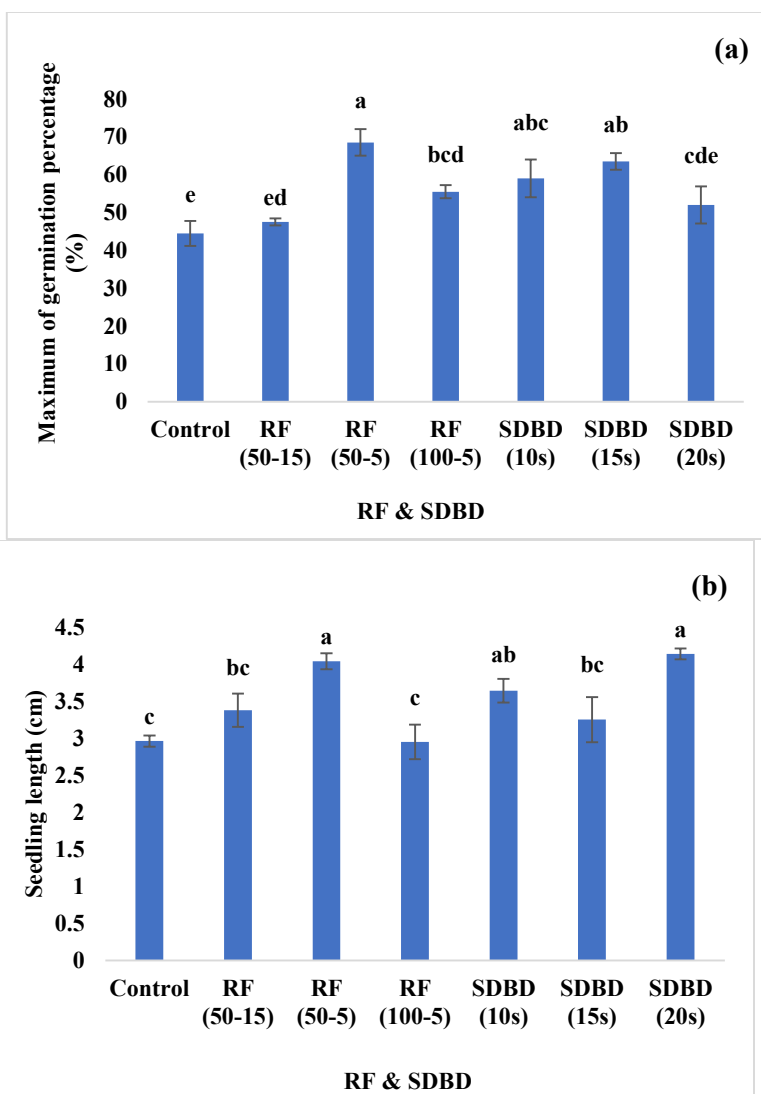
شکل ۲. مقایسه میانگین حداکثر درصد جوانه‌زنی (a)، طول گیاهچه (b)، وزن تر گیاهچه (c) و وزن خشک گیاهچه (d) در اکوتیپ درگز سیاهدانه تحت تأثیر سطوح مختلف پلاسمای سرد (گلاپدین آرک)

نتایج نشان داد که اثر پلاسمای سرد RF و SDBD بر وزن خشک گیاهچه اکوتیپ یزد سیاهدانه، در سطح پنج درصد و بر حداکثر درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن تر گیاهچه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسات میانگین، تیمار RF با توان ۵۰ و زمان ۵ دقیقه با ۶۸/۵ درصد بیشترین درصد جوانه‌زنی و تیمار شاهد نیز با ۴۴/۵ درصد کمترین درصد جوانه‌زنی را در اکوتیپ یزد سیاهدانه حاصل نمود که در تیمار شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳a). تیمار پلاسمای SDBD با زمان ۲۰ ثانیه، بیشترین طول گیاهچه را در اکوتیپ یزد حاصل نمود که این صفت در تیمار شاهد (۲/۹۶ سانتی‌متر) به صورت معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳b). تیمار RF با توان ۵۰ در زمان ۵ دقیقه با ۰/۱۴۴۳ گرم بیشترین و تیمار RF با توان ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه با ۰/۰۵۴۲ گرم کمترین وزن تر را در اکوتیپ یزد، دارا بودند (شکل ۴a). در اکوتیپ یزد، تیمار SDBD با زمان ۲۰ ثانیه با ۰/۰۱۲۰ گرم بیشترین و تیمار RF با توان ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه و تیمار شاهد با ۰/۰۰۶۹ و ۰/۰۰۸۱ گرم کمترین وزن خشک گیاهچه را دارا بودند (جدول ۴b).

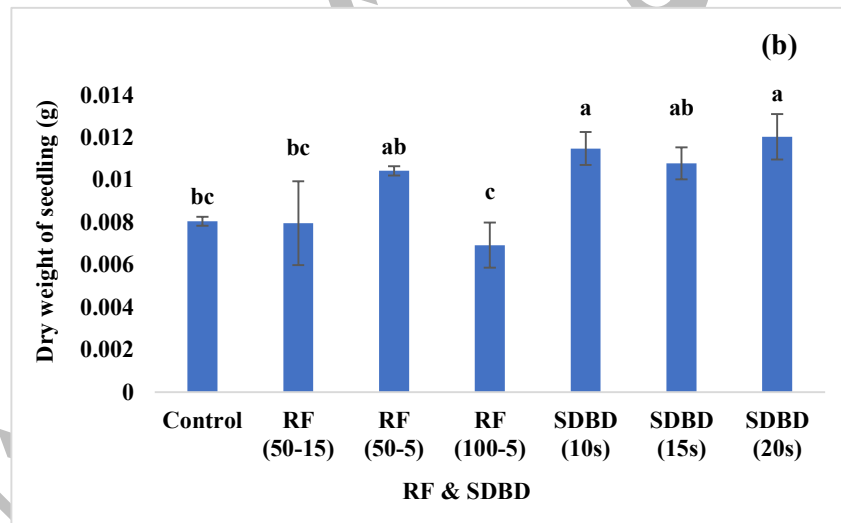
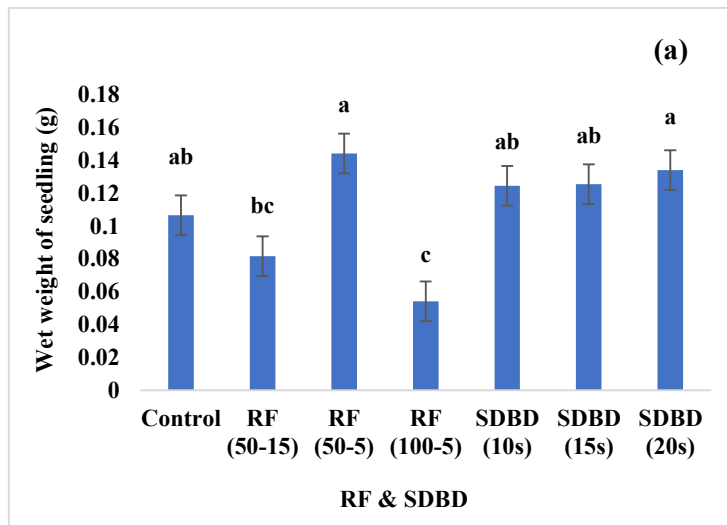
تجزیه واریانس برخی صفات جوانه‌زنی و مورفولوژیکی گیاهچه اکوتیپ یزد سیاهدانه در آزمایشگاه تحت تأثیر سطوح مختلف پلاسمای سرد RF و SDBD

S.O.V	Mean Squares					
	Maximum germination per	Germination	Uniformit germinat	Seedling l	Wet weig seedlir	Dry weig seedlir
Cold Plasma (SDBD)	294.61**	0.0005n	0.0032n	0.9208	0.00048	0.00000
Error	46.23	0.00021	0.0019	0.140	0.0000	0.00000
CV (%)	12.18	7.47	6.32	10.77	9.18	6.85

۱. به ترتیب به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح پنج درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری است.



شکل ۳. مقایسه میانگین حداکثر درصد جوانه‌زنی (a) و طول گیاهچه (b) در اکوتیپ یزد سیاهدانه تحت تأثیر سطوح مختلف پلاسمای سرد (SDBD و RF)



شکل ۴. مقایسه میانگین وزن تر (a) و وزن خشک گیاهچه (b) در اکوتیپ یزد سیاهدانه تحت تأثیر سطوح مختلف پلاسمای سرد (RF و SDBD) مطابق با نتایج، پلاسمای گلایدین آرک در تیمارهای ۲ و ۳ دقیقه بیشترین درصد جوانه‌زنی را در اکوتیپ درگز سیاهدانه حاصل کردند اما تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند. اما در تیمار با پلاسمای RF و SDBD، درصد جوانه‌زنی بذور اکوتیپ یزد سیاهدانه در اکثر سطوح تیمارها نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر بود. به نظر می‌رسد تیمارهای پلاسمای RF و SDBD بر ویژگی درصد جوانه‌زنی بذور سیاهدانه نسبت به پلاسمای گلایدین آرک اثرگذاری بیشتری داشتند. در زمینه اثر پلاسمای سرد بر جوانه‌زنی محصولات مختلف مطالعاتی انجام گرفته است که با نتایج این آزمایش هم‌راستا هستند. نتایج آزمایش حاضر نیز حاکی از تأثیرگذاری مناسب پلاسمای سرد خصوصاً پلاسمای سرد RF و SDBD بر درصد جوانه‌زنی گیاه سیاهدانه اکوتیپ یزد بود. در پژوهشی پلاسمای سرد موجب افزایش درصد جوانه‌زنی سویا شد (Porto *et al.*, 2019). همچنین گزارش شده است که با استفاده از پلاسمای سرد جوانه‌زنی در نخود به میزان ۱۴/۶۶ درصد افزایش یافت (Fereydooni & Haji Agha, 2022). در آزمایشی با اعمال پلاسمای سد دی‌الکتریک (SDBD) به مدت هفت دقیقه، افزایش ۲۶/۷ درصدی پتانسیل جوانه‌زنی در گندم گزارش شده است (Li *et al.*, 2017). در اثر پلاسمای سرد، بمباران یونی و الکترونی و همچنین

تغییر زاویه تماس، سبب تغییراتی در پوسته بذر شده و این امر نفوذپذیری و جذب آب را افزایش میدهد که این موارد در افزایش و تحریک جوانه‌زنی مؤثرند (Ling *et al.*, 2014; Adhikari *et al.*, 2020). جذب آب می‌تواند مستقیماً با توان و زمان تیمارهای پلاسما مرتبط باشد (Pourbagher *et al.*, 2024). در پژوهشی دیگر نیز افزایش درصد جوانه‌زنی بذور گیاه پرپوش *Noormohammadi* (Catharanthus roseus L.) به نسبت گیاهان شاهد را تحت تیمار ۵۰ ثانیه پلاسما سرد گزارش کردند (Noormohammadi *et al.*, 2019). فعالیت انواعی از گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در شرایط تیمار با پلاسما، اثرات تنظیم‌کنندگی مشهودی در فرایندهای رشد و نمو شامل متابولیسم‌ها و انتقال پیام و جذب مواد غذایی دارند که می‌تواند سبب بهبود جوانه‌زنی گردد (Yong *et al.*, 2019). در گزارش دیگری درصد جوانه‌زنی بذرهای کنجد تحت تیمار پلاسما ۸۰ وات به مدت ۱۰ ثانیه از ۸۲/۲ به ۱۰۰ درصد افزایش یافت (Goudarzi *et al.*, 2021). این افزایش بر اساس گزارشات پژوهشگران ممکن است به دلیل افزایش آبدوستی ناشی از تغییرات سطحی بذر باشد و در پلاسما سرد، یون‌ها و الکترون‌ها وجود دارند. بنابراین پلاسما می‌تواند سطح خارجی بذر را تحت تأثیر قرار داده و سطح بذر را هموار کند که باعث کاهش زاویه سطح تماس قطرات آب روی سطح بذر و تغییر ساختار شیمیایی لایه‌های بذر و افزایش آبدوستی آن می‌شود (Ling *et al.*, 2014; Fereydooni & Haji Agha Alizadeh, 2022). گزارش شده است که پیش‌تیمار بذر مارچوبه وحشی با پلاسما سرد، موجب افزایش ۱۵ درصدی جوانه‌زنی، افزایش جذب آب بذر و ضدعفونی سطح بذر شد (Loporto *et al.*, 2019). تیمار با پلاسما سرد می‌تواند سبب کاهش میزان تکثیر باکتری‌های بذر، تغییر ساختار پوشش، افزایش نفوذپذیری پوشش بذر شده و در نتیجه جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه را تقویت نماید (Mahdizadeh *et al.*, 2023).

جوانه‌زنی بذور سیاهدانه (در شرایط عادی و تیمار شاهد) در مطالعات مختلف حدود ۹۰/۷ درصد (Amooaghaei & Baghaei, 2015)، ۹۱/۳ درصد (Koocheki *et al.*, 2016)، ۸۰ درصد (Madadi *et al.*, 2016)، ۹۶ درصد (Yadavi *et al.*, 2016) گزارش شده است. بنابراین برای این دو اکوتیپ سیاهدانه درگز و یزد که درصد جوانه‌زنی آنها به ترتیب ۴۸ و ۴۴/۵ درصد بوده و از حالت نرمال در سایر مطالعات پایین‌تر بوده است، کاربرد پلاسما سرد همانطور که در نتایج مشهود است باعث افزایش درصد جوانه‌زنی به نزدیک حدود ۷۰ درصد گردیده و راهکاری مناسب برای این بذور و بذوری که درصدهای پایینی از جوانه‌زنی را دارند، می‌باشد.

در این آزمایش همچنین صفت طول گیاهچه مورد بررسی قرار گرفت، اکوتیپ درگز تحت هر چهار تیمار گلایدین آرک نسبت به تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری طول گیاهچه بزرگتری داشت و تیمار گلایدین آرک با زمان ۳۰ ثانیه با ۳/۶۴ سانتی‌متر و تیمار شاهد با ۲/۶۵ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین طول گیاهچه را داشتند (شکل ۲b). افزایش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در بذور ذرت نیز تحت تیمارهای ۳، ۵ و ۱۰ دقیقه پلاسما گلایدین آرک نسبت به تیمار شاهد مشاهده شده است (Šerá *et al.*, 2021). همچنین در اکوتیپ یزد، تیمارهای SDBD با زمان ۲۰ ثانیه و RF با توان ۵۰ و زمان ۵ دقیقه بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بیشترین (۴/۱۴ و ۴/۰۴ سانتی‌متر) و تیمارهای شاهد و RF با توان ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه نیز کمترین (۲/۹۶ و ۲/۹۵ سانتی‌متر) طول گیاهچه را داشتند (شکل ۳b). گزارش شده است که تیمار بذور سوپا با پلاسما سرد ۸۰ وات به مدت زمان ۱۵ ثانیه باعث افزایش معنی‌دار طول گیاهچه (۱۳/۸ درصد) نسبت به شاهد شد (Noormohammadi *et al.*, 2014). در مطالعات دیگری در گندم (Li *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018)، گیاه پرپوش (Noormohammadi *et al.*, 2019) و کنجد (Goudarzi *et al.*, 2021) در طول گیاهچه تحت تیمار پلاسما سرد افزایش معنی‌دار گزارش شده است. رشد ریشه‌چه می‌تواند توسط تیمار با پلاسما سرد تحت تأثیر قرار گیرد و بهبود یابد و در نهایت بر جذب آب و مواد غذایی نیز اثرگذار باشد (Perez-Piza *et al.*, 2020).

در بذور سیاهدانه اکوتیپ درگز، تیمار گلایدین آرک در زمان ۳ دقیقه و زمان ۳۰ ثانیه به ترتیب با ۰/۱۱۸ و ۰/۱۱ گرم نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری وزن تر گیاهچه بیشتری را حاصل نمودند (شکل ۲c). همچنین در اکوتیپ یزد، برخی تیمارهای پلاسما سرد RF و SDBD باعث افزایش وزن تر گیاهچه نسبت به تیمار شاهد گردیدند که این افزایش معنی دار نبود (شکل ۴a). در بذور سیاهدانه اکوتیپ درگز، تیمارهای گلایدین آرک در زمان ۳ دقیقه و ۳۰ ثانیه نسبت به تیمار شاهد وزن خشک گیاهچه بیشتری را حاصل نمودند که این افزایش معنی دار نبود (شکل ۲d). اما در اکوتیپ یزد، تیمارهای پلاسما سرد SDBD در ۱۰ و ۲۰ ثانیه به صورت معنی داری نسبت به شاهد وزن خشک گیاهچه را افزایش دادند (شکل ۴b). در تحقیقی که روی گندم انجام شد تیمار پلاسما سرد دی الکتریک (SDBD) در اتمسفر هوا به مدت ۷ دقیقه وزن تر و خشک را به میزان قابل توجهی افزایش داد (Li et al., 2017). همچنین گزارش شده است که بذور ذرت تحت تأثیر پلاسما سرد نسبت تیمار شاهد، رشد بیشتری داشتند (Ahn et al., 2019). گزارش شده است که تیمار پلاسما سرد ۸۰ وات به مدت ۱۵ ثانیه وزن خشک اندام هوایی سویا را نسبت به تیمار شاهد، ۲۱/۹ درصد افزایش داد (Ling et al., 2014). همچنین افزایش معنی دار وزن خشک اندام هوایی گیاه گندم در تیمار پلاسما سرد با مدت زمان ۴ دقیقه به نسبت تیمار شاهد گزارش شده است (Guo et al., 2018) که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت داشت. از آنجا که ذخیره کافی مواد مغذی برای رشد بذور ضروری است، افزایش طول ریشه به دلیل پلاسما سرد می تواند باعث افزایش جذب و نفوذ ذخیره مواد مغذی به بذور شود (Fereydooni & Haji Agha Alizadeh, 2022)؛ در نتیجه احتمال تولید گیاهچه هایی با وزن بیشتر افزایش می یابد. تیمار با پلاسما سرد می تواند متابولیسم فیزیولوژیکی گیاه، همچون فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، رنگدانه های فتوسنتزی، کارایی فتوسنتزی و فعالیت نیترات ردوکتاز را بهبود بخشد و بدین طریق سبب تقویت رشد گیاهچه گردد (Mahdizadeh et al., 2023). رادیکال های فعال موجود در پلاسما، بعنوان عامل کنترل کننده تمایز آوندی عمل می کنند و با فعال کردن فیتوهورمون ها بر تمایز سیستم آوندی اثر می گذارند و با تغییر الگوی پراکنش آوندی و افزایش اندازه آوندهای برگ، ساقه و ریشه به جذب بهتر آب و مواد غذایی توسط گیاه کمک می کنند (Asnavandi et al., 2021). افزایش درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه در بذور زیره سبز تحت تیمار پلاسما سرد SDBD نیز گزارش شده است (Mahdizadeh et al., 2023).

نتیجه گیری کلی

پلاسما سرد در هر سه نوع مورد استفاده در این مطالعه، تأثیر مثبتی بر خصوصیات جوانه زنی بذور گیاه سیاهدانه در دو اکوتیپ درگز و یزد داشت. در اکوتیپ درگز گیاه سیاهدانه، پلاسما سرد گلایدین آرک در تمامی تیمارهای زمانی سبب افزایش طول گیاهچه شد و در زمان های ۳ دقیقه و زمان ۳۰ ثانیه به صورت معنی داری سبب حصول وزن تر گیاهچه بیشتری نسبت به شاهد شد. در اکوتیپ یزد گیاه سیاهدانه نیز، اکثر تیمارهای پلاسما سرد RF و SDBD نسبت به شاهد سبب افزایش حداکثر درصد جوانه زنی، طول ساقه چه و وزن تر و خشک گیاهچه شد. در نتیجه می توان استفاده از این تکنیک های پلاسما سرد را جهت بهبود جوانه زنی بذور و رشد گیاهچه مؤثر دانست که متعاقباً به تولید گیاهان مقاوم تری در برابر مؤلفه های محیطی منجر خواهد شد.

منابع

- Adhikari, B., Adhikari, M. & Park, G. (2020). The effects of plasma on plant growth, development, and sustainability, *Applied Sciences*, (10)17, 6045.
- Amooaghaei, R. & Baghaei, M. Dose-dependent effect of vermicompost and its extract on seed germination and vegetative growth of *Nigella sativa*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 27(4): 691-702. (In Farsi)
- Ahn, C., Gill, J. & Ruzic, D. N. (2019). Growth of plasma-treated corn seeds under realistic conditions. *Scientific reports*, 9(1), 4355.

- Asnavandi, A., Barzin, G., Davari Mahabadi, T., Entezari, M. & Pishkar, L. (2021). Study of anatomical changes of Fennel plants following cold plasma radiation. *Journal of Cell & Tissue*, 12(1), 1-19. (In Farsi)
- Farooq, S. & Azam, F. (2006). The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerance wheat varieties. *Journal of Plant Physiology*, 163, 629-637.
- Fereydooni, M. & Haji Agha Alizadeh, H. (2022). Microscopic investigation of cold plasma effect on Chickpea seed germination. *Journal of Agricultural Machinery*, 12(2), 231-240. (In Farsi)
- Ghaderi-Far, F., Soltani, A. & Sadeghipour, H. R. (2011). Changes in seed quality during seed development and maturation in medicinal pumpkin. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 17(3), 249-257.
- Goudarzi, SH., Ghafoorifard, H, Ghasemi, S. A. & Mazandarani, A. (2021). The effect of atmospheric cold plasma on the rates of germination and root length and shoot length of sesame seed. *27th Iran Nuclear Conference*, 1-7 Mar., Nuclear Society of Iran, Iran. (In Farsi)
- Guo, Q., Meng, Y., Qu, G., Wang, T., Yang, T., Liang, D. & Hu, Sh. (2018). Improvement of wheat seed vitality by dielectric barrier discharge plasma treatment, *Bioelectromagnetics*, 39(2), 120-131.
- Khamsen, N., Akkarachanchainon, A., Fookiat, K., Srisala, J., Chomchuen, S., Kanokbannakorn, W. & Srisonphan, S. (2016). Atmospheric cold plasma via fringe field enhanced corona discharge on single dielectric barrier for largevolume applications. *Procedia Computer Science*, 86, 321-324.
- Koocheki, A., Tabrizi, L., Keikha Akhar, M. & Roohi, A. (2016). Investigation of yield and germination qualitative characteristics of seeds of Black cumin (*Nigella sativa* L.), Isabgol (*Plantago ovate* Forsk.) and Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under organic cultivation. *Agroecology*, 8(2): 153-168. (In Farsi)
- Li, Y., Wang, T., Meng, Y., Qu, G., Sun, Q., Liang, D. & Hu, S. (2017). Air atmospheric dielectric barrier discharge plasma induced germination and growth enhancement of wheat seed. *Plasma Chem. Plasma Process*, 37, 1621-1634.
- Ling, L., Jiafeng J., Jiangang L., Minchong S., Xin H., Hanliang S. & Yuanhua, D. (2014). Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific Reports*, 4(1), 5859.
- Madadi, M., Khomari, S., Javadi, A. & Sofalian, O. (2016). Effect of black cumin seed priming with calcium nitrate and nano-zinc oxide on germinability and seedling growth under salinity stress. *Plant Process and Function*, 5(15):169-180. (In Farsi)
- Mahdizadeh, N., Jami Moeini, M. & Khorshidi, P. (2023). Germination percentage enhancement of cumin Seed by cold plasma treatment. *Iranian Journal of Applied Physics*, 13(2), 33, 73-87. (In Farsi)
- Noormohammadi, Z., Mohammadzadeh-Shahir, M., Fahmi, D., Atyabi, S. M. & Farahani, F. (2019). Induced genetic and morphological changes in *Catharanthus roseus* L. by cold atmospheric plasma. *Nova Biologica Reperta*, 6 (3), 302-310.
- Olatunde, O. O., Benjakul S. & Vongkamjan, K. (2019). Dielectric barrier discharge cold atmospheric plasma: Bacterial inactivation mechanism. *Journal of Food Safety*, 39(6), p.e12705.
- Pérez-Pizá, M. C., Cejas, E., Zilli, C., Prevosto, L., Mancinelli, B., Santa-Cruz, D., Yannarelli, G. & Balestrasse, K. (2020). Enhancement of soybean nodulation by seed treatment with non-thermal plasmas. *Scientific Reports*, 10(1), 4917.
- Pizá, M. C. P., Prevosto, L., Zilli, C., Cejas, E., Kelly, H. & Balestrasse, K. (2018). Effects of non-thermal plasmas on seed-borne Diaporthe/ Phomopsis complex and germination parameters of soybean seeds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 49, 82-91.
- Porto, C. L., Sergio, L., Boari, F., Logrieco, A. F. & Cantore, V. (2019). Cold plasma pretreatment improves the germination of wild asparagus (*Asparagus acutifolius* L.) seeds. *Scientia Horticulturae*. 256, p.108554.
- Pourbagher, M., Pourbagher, R. & AbbaspourFard, M. H. Cold Plasma Technique in Controlling Contamination and Improving the Physiological Processes of Cereal Grains (a Review). *Journal of Agricultural Machinery*, 14(1): 83-104.
- Randeniya, L. K. & Groot, G. J. J. B. D. (2015). Non-thermal plasma treatment of agricultural seeds for stimulation of germination, removal of surface contamination and other benefits: A review. *Plasma Processes and Polymers*, 12, 608–623.
- Rezaei-Chiyaneh, E., Seyyedi, S. M., Ebrahimian, E., Siavash-Moghaddam, S. & Damalas, C. A. (2018). Exogenous application of gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates the effect of water deficit stress in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Industrial Crops and Products*, 112, 741-748.
- Šerá, B., Vanková, R., Roháček, K. & Šerý, M. (2021). Gliding arc plasma treatment of Maize (*Zea mays* L.) grains promotes seed germination and early growth, affecting hormone pools, but not significantly photosynthetic parameters. *Agronomy*, 11, 2066.

Shetab Bushehri, S. M., Abbaszadeh, R. & Sarami, Sh. (2019). The effect of plasma activated water on the percentage and speed of seed germination and early stem growth. *7th Plasma Engineering and Physics Conference*, 17-18 July, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran, pp. 101-104. (in Farsi).

Soltani, A., Robertson, M. J., Torabi, B., Yousefi-Daz, M. & Sarparast, R. (2006). Modelling seedling emergence in chickpea as influenced by temperature and sowing depth. *Agricultural and Forest Meteorology*, 138 (1-4), 156-167.

Soltani, A. & Maddah, V. (2010). *Simple applied programs for education and research in agronomy*. ISSA press. First Edition, Iran, 80p. (In Farsi)

Soltani, E., Baskin, C. C. & Baskin, J. M. (2017). A graphical method for identifying the six types of non-deep physiological dormancy in seeds. *Plant Biology*, 19(5), 673-682.

Thirumdas, R. (2018). Exploitation of cold plasma technology for enhancement of seed germination. *Journal of Agricultural Research and Technology*, 13(2), 1-5.

Yodpitak, S., Mahatheeranont, S., Boonyawan, D., Sookwong, P., Roytrakul, S. & Norkaew, O. (2019). Cold plasma treatment to improve germination and enhance the bioactive phytochemical content of germinated brown rice. *Food Chemistry*, 289, 328-339.

Yadavi, A. R., Movahedi Dehnavi, M. & Balouchi, H. R. (2009). Investigating the effect of salinity and drought on the germination of seeds of medicinal plants of *Nigella sativa* and *Silybum marianum*. 11th Iranian Soil Sciences Congress. 12-14 July 2009. Gorgan, Iran. (In Farsi)

Yong, H. I., Lee, S. H., Kim, S. Y., Park, S., Park, J., Choe, W. & Jo, C. (2019). Color development, physiochemical properties, and microbiological safety of pork jerky processed with atmospheric pressure plasma. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 53, 78-84.

The effect of cold plasma treatment on seed germination and morphological characteristics of seedlings of two ecotypes of Black Cumin (*Nigella sativa* L.)

Abstract

In order to investigate the effect of cold plasma on the seed germination and emergence of Black Cumin, an experiment was conducted in 2022 in the form of a completely randomized design with four replications on two ecotypes of Black Cumin, Dargaz and Yazd. The treatments include the control treatment (without cold plasma), cold plasma treatment based on gliding arc in 30s, 1, 2 and 3 minutes on Dargaz ecotype; and control treatment, radio frequency (RF) plasma treatments with power of: 50W in 5 minutes, 50W in 15 minutes and 100W in 5 minutes and cold plasma treatment based on Surface dielectric barrier discharge (SDBD) in 10, 15 and 20 seconds on Yazd ecotype. The results showed that in Dargaz ecotype, gliding arc treatment in 3 minutes with 67.5% and in Yazd ecotype, RF treatment with a power of 50W in 5 minutes with 68.5% achieved the highest germination percentage. In Dargaz ecotype, gliding arc treatment in 30s and in Yazd ecotype, SDBD treatment in 20s caused the maximum seedling length. In general, the results of this research showed that cold plasma improved the seed germination and morphological characteristics of Black Cumin seedlings in both ecotypes.

Keywords: Germination percentage, Gliding arc, Radio frequency plasma, Seedling, Surface dielectric barrier discharge