کاربرد بیوچار و اسید هیومیک برای افزایش مقاومت به تنش خشکی در گل آهار

سپیده کشاورزفرد[1]، موسی سلگی[2]، حسین باقری[3]، ایمان شهرجردی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۹
تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۹/۱۶

چکیده

استفاده از اسید هیومیک و افزودن بیوچار به خاک می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر در کاهش آثار تنش خشکی در گل آهار (Zinnia elegans L.) باشد. در این پژوهش تاثیر فاکتورهای بیوچار (صفر، ۲۰ و ۴۰ گرم در کیلوگرم خاک گلدان)، اسید هیومیک (صفر، ۲۰۰ و ۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سطح آبیاری (پنجاه و صد درصد ظرفیت زراعی) بررسی شد. بر طبق نتایج به‌دست آمده، تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل فسفر و پتاسیم برگ‌ها ولی افزایش میزان کارتنوئید، نشت یونی، پرولین، عناصر نیتروژن و منیزیم می‌شود. اسید هیومیک با کاهش تنش خشکی باعث تولید پرولین کم در گیاهان می‌گردید. اثر متقابل بیوچار و اسید هیومیک بر میزان کلروفیل a و کل، نیتروژن و فسفر معنی‌دار بود. استفاده از اسید هیومیک باعث مقابله با تنش خشکی و استفاده از آن تحت شرایط تنش خشکی توصیه می‌شود. استفاده از بیوچار نیز برای کمبود عناصر غذایی فسفر و نیتروژن توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسید هیومیک، بیوچار، تنش خشکی، گل آهار

مقدمه

گیاهان طی دوران رشد خود با تنش‌های متعدد محیطی مواجه می‌شوند، که هریک از آن‌ها می‌توانند با توجه به میزان حساسیت و مرحله‌ی رشدی گیاه اثرات متفاوتی بر رشد و عملکرد داشته باشند. کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیاست (حیدری و میری آزاد مینایی، ۱۳۹۲). تنش طولانی‌مدت رطوبتی بر تمام فرآیندهای متابولیکی گیاه اثر می‌گذارد و اغلب موجب کاهش تولید گیاه می‌شود (Abedi & Pakniyat, 2010). کشور ایران دارای آب‌وهوای خشک و نیمه‌خشک است و کمبود آب یکی از مشکلات اساسی کشاورزی ایران می‌باشد. بنابراین وقوع تنش خشکی در دوره رشد گیاهان امری اجتناب‌ناپذیر است. واکنش گیاهان

۱-کارشناس ارشد گروه مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک
۲- استادیار دانشگاه اراک- دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی –گروه مهندسی باغبانی
*(نویسنده مسئول:M-solgi@araku.ac.ir)
۳-کارشناس ارشد گروه مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک
۴-کارشناس ارشد گروه مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک

مختلف و حتی رقم‌های مختلف از یک گیاه نسبت به تنش خشکی متفاوت است (خدابنده و جلیلیان، ۱۳۷۶؛ Vieira *et al.*, 1991).

تنش‌های مختلف محیطی منجر به تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی بسیاری می‌شوند که به طرز نامطلوبی رشد و باردهی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند و مانع بروز پتانسیل ژنتیکی کامل گیاه می‌شوند (Rodriguez *et al.*, 2005). در مناطقی با اقلیم خشک و نیمه‌خشک در طی بروز تنش خشکی، گیاهان با ذخیره مواد تنظیم‌کننده‌ی اسمزی همانند اسیدهای آمینه، قندها، برخی از یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها سعی در مقابله با تنش دارند (Reddy *et al.*, 2004). شرایط محیطی تنش‌زا از گیاهی به گیاه دیگر متفاوت است (وفابخش و همکاران، ۱۳۸۷) و عموماً خشک‌سالی مهم‌ترین عامل محدودکننده‌ی رشد گیاه و تولید محصول در سراسر نقاط جهان است .(Abedi & Pakniyat, 2010)

از راهکارهایی که برای حفظ و گسترش فضای سبز در مناطقی که دچار کم‌آبی و شوری می‌باشند، می‌توان به آن پرداخت، استفاده از گونه‌های زینتی مقاوم به خشکی و شوری یا القاء مقاومت به این تنش‌ها از طریق روش‌های اصلاح نباتات و فیزیولوژیکی است (بیات و همکاران، ۱۳۹۱). گل آهار به‌عنوان یک گل زینتی پرکاربرد از گیاهان خانواده کلاپرک‌سانان (Asterasceae) با گل‌های رنگارنگ و بومی مکزیک است .(Dole & Wilkins, 2005) آهار از جمله گل‌های تابستانه می‌باشد که در حاشیه‌کاری، باغچه و به‌عنوان گل بریدنی استفاده می‌شود (حکمتی، ۱۳۸۲). هم‌چنین این گل به‌دلیل دوره گلدهی طولانی که از اواخر بهار تا اواسط پاییز ادامه دارد و نیز تحمل آن به خشکی و گرمای زیاد، از ارزش بالایی در فضای سبز برخوردار است. این گل، زمین‌های مرطوب و آفتابگیر را می‌پسندد و در دماهای بالا رشد سریعی دارد (بیرقدرا و همکاران، ۱۳۹۵؛ ابراهیم‌زاده و سیفی، ۱۳۷۵؛ Dole & Wilkins, 2005).

در طول سال‌های گذشته، کاربرد برگی (به‌صورت محلول‌پاشی) تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و مولکول‌های زیستی به‌عنوان روشی جدید در افزایش عملکرد و کیفیت محصول در شرایط تنش غیرزنده مورد توجه قرارگرفته است (Nayyar *et al.*, 2005). اسید هیومیک یک ترکیب پلیمری طبیعی آلی است که درنتیجه پوسیدگی مواد آلی خاک، پیت، لیگنین و غیره به‌وجود می‌آید که می‌تواند برای افزایش محصول و کیفیت آن به‌کار گرفته شود (Aiken *et al.*, 1985). تأثیر اسید هیومیک بر رشد گیاه ممکن است به‌صورت مستقیم (افزایش کل وزن خشک گیاه) و یا به‌صورت غیرمستقیم (افزایش راندمان مصرف کود و کاهش فشردگی خاک) باشد. اسید هیومیک با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت نگهداری آب در خاک و هم‌چنین ایفای نقش بر نفوذپذیری غشاء به‌عنوان ناقل پروتئین، فعال کردن تنفس، چرخه‌ی کربس، فتوسنتز و تولید آمینواسید و آدنوزین تری فسفات باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود (Muscolo *et al.*, 2013).

از سوی دیگر بیوچار یک ترکیب کربنی آلی عمدتاً پایدار و مقاوم است که از حرارت دادن زیست‌توده، معمولاً در دماهای بین ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط اکسیژن کم (ترجیحاً نبود اکسیژن) تولید می‌شود (Lehmann *et al.*,

2009). افزایش آب قابل‌دسترس در اثر افزودن بیوچار به‌دلیل تغییری است که بیوچار به‌واسطه‌ی سطح ویژه‌ی بالا در توزیع اندازه ذرات و تخلخل خاک ایجاد کرده است (Sun *et al.*, 2014). افزودن بیوچار سبب کاهش چگالی ظاهری می‌شود (Laird *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). یکی از مهم‌ترین پارامترهای فیزیکی خاک که به‌شدت تولید محصول را هم تحت تأثیر قرار می‌دهد، آب در دسترس گیاه است. مطالعات اخیر نشان دادند که بیوچار سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌شود (Martinsen *et al.*, 2014; Basso *et al.*, 2013).

این تحقیق به‌منظور ارائه‌ی راهکاری برای کاهش مصرف آب و بهبود ویژگی‌های رشدی گل آهار انجام گرفت. بدین منظور به بررسی تأثیر بیوچار و اسید هیومیک در گذر از تنش خشکی و بهبود ویژگی‌های رشدی گل آهار پرداخته شد. با بررسی ویژگی‌های ظاهری و بیوشیمیایی رشدی گل آهار، میزان مقاومت به تنش خشکی به‌دست آمد و بیوچار و اسید هیومیک به‌عنوان کاهش‌دهنده تنش‌ها و برطرف نمودن مشکلات کم‌آبی معرفی شدند.

مواد و روش‌ها

تیمارها، مکان، زمان و شرایط آزمایش:

این تحقیق در گلخانه‌ی تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی دانشگاه اراک در زمستان سال ۱۳۹۶ و بهار سال ۱۳۹۷ به‌صورت گلدانی انجام پذیرفت. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام گردید. فاکتورها شامل بیوچار (سه سطح: صفر، بیست و چهل گرم در کیلوگرم خاک)، اسید هیومیک (سه سطح: صفر، دویست و پنجاه و پانصد میلی‌گرم بر لیتر) و ظرفیت زراعی (دو سطح پنجاه و صد درصد ظرفیت زراعی) بود. گلدان‌های مورد استفاده پنج کیلویی بودند و جهت تعیین درصد ظرفیت زراعی (FC)[1] به روش وزنی عمل شد.

در ابتدا بستری از کوکوپیت تهیه گردید و داخل سینی‌های نشا ریخته شد. سپس بذرهای گل آهار درون سینی‌های نشا کاشته شدند و بستر مرطوب گردید. پس از آن آبیاری یک روز در میان انجام گردید. پس از گذشت حدود پنج روز بذرها جوانه زدند و نشاها ظاهر شدند. مراقبت از نشاها و آبیاری آن‌ها تا زمانی‌که نشاها دارای چهار برگ حقیقی شدند، ادامه پیدا کرد. سپس نشاها درون گلدان‌هایی که از قبل آماده شده بود، انتقال داده شدند. گلدان‌های مورد استفاده نیز از جنس پلاستیک با قطر دهانه ۱۰سانتی‌متر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر بودند و بستر کشت گلدان‌های در نظر گرفته شده شامل مخلوطی از یک قسمت خاک لوم، یک قسمت ماسه و دو قسمت کود دامی پوسیده بود. سطح زیرین گلدان با وزن مشخصی از سنگ‌ریزه پر شد و سپس بیوچار با وزن مشخص به مخلوط خاکی اضافه شد و مخلوط خاکی مورد نظر درون گلدان ریخته شد. تمامی گلدان‌ها در شرایط

[1] - Field capacity

مناسب و یکسان نگهداری شدند. میانگین دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد، و رطوبت گلخانه پنجاه درصد و شدت نور ۴۰۰ تا ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه بود. در مدت آزمایش گیاهان از نظر بیماری و آفت مورد بررسی مداوم قرار گرفتند.

طول دوره این آزمایش ۹۵ روز بود و شروع آزمایش اسفندماه ۱۳۹۶ و پایان آن خردادماه سال ۱۳۹۷ بود. پس از انتقال نشاها به گلدان (زمانی‌که گیاهچه‌ها قوی شدند) اعمال تیمارهای تنش و محلول‌پاشی اسید هیومیک (به‌صورت هفتگی) انجام گردید و تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. شروع محلول‌پاشی دو هفته قبل از شروع تنش و دو هفته بعد از انتقال نشا بود. عمل محلول‌پاشی به‌صورت افشانه کردن محلول روی تمام قسمت‌های برگ‌های گیاه صورت پذیرفت. پس از پایان آزمایش، میزان کلروفیل، کارتنوئید، پرولین، نشت یونی، میزان عناصر نیتروژن، فسفر، منیزیم، پتاسیم و کلسیم گیاه مورد سنجش قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کارتنوئید

به‌منظور اندازه‌گیری کلروفیل از روش آرنون (Arnon, 1949) استفاده گردید. ۰/۲ گرم برگ تازه از برگ‌های گل آهار را در هاون چینی ریختیم و با استفاده از نیتروژن مایع آن را خرد و به‌خوبی له کردیم. ۱۰میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه، و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت شش هزار rpm (دور در دقیقه) به‌مدت ده دقیقه قرار داده شد. سپس جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳،۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytica Gena-200plus) خوانده شد. جذب‌های خوانده‌شـــده (A) را در فرمول‌های (۴-۱) زیر قرار دادیم و مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید برحســـب میلی‌گرم کلروفیل استخراج‌شده در هر گرم بافت تر برگ محاسبه گردید.

(فرمول ۱): $Chlorophylla\ (chla) = (19.3\times A663 - 0.86\times A645)\ V/100W$

(فرمول ۲): $Chlorophyllb\ (chlb) = (19.3\times A645 - 3.6\times A663)\ V/100W$

(فرمول ۳): $Total\ Chlorophyll\ (Tchl) = (chla) + (chlb)$

(فرمول ۴): $Carotenoides = 100(A470) - 3.27(mgchla) - 104(mgchlb)/227$

در این رابطه، A: جذب ثبت‌شده، A663: میزان جذب در طول‌موج ششصد و شصت و سه نانومتر، A645: میزان جذب در طول‌موج ششصد و چهل و پنج نانومتر، A470: میزان جذب در طول‌موج چهرصد و هفتاد نانومتر،W: وزن‌تر نمونه برحسب گرم و V: حجم محلول صاف‌شده.

اندازه‌گیری پرولین

به‌منظور اندازه‌گیری میزان پرولین از روش اندازه‌گیری بتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. نمونه‌های برگی توسط ازت مایع در داخل هاون چینی خرد شد. برای هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیک سه درصد به‌وسیله

سمپلر برداشته و روی نمونه گیاهی خردشده ریخته شد. عصاره‌ی حاصل در فالکن‌های ۱۵میلی‌لیتری ریخته شد. فالکن‌های حاوی عصاره، درون سانتریفیوژ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با پانزده هزار دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه (برای جداسازی مواد اضافی از محلول) قرار داده شد. سپس ۲میلی‌لیتر از عصاره‌ی صاف شده‌ی رویی را با ۲میلی‌لیتر شناساگر نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص در لوله آزمایش ریخته و به‌مدت یک ساعت در دمای نود درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌های آزمایش، چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه و ورتکس شد تا دو فاز جداگانه ایجاد گردید. مقدار دو میلی‌لیتر از فاز رویی توسط سمپلر برداشته، در داخل کووت ریخته شد و در دستگاه اسپکتوفتومتر قرار گرفت. سپس میزان جذب در طول‌موج پانصد و بیست نانومتر قرائت شد. برای تهیه پرولین‌های استاندارد، ابتدا ۰/۰۱ گرم پودر پرولین در اسید سولفوسالیسیک سه درصد حل شد و به حجم صد میلی‌لیتر رسانده شد و سپس پنج محلول استاندار با غلظت صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول پایه‌ی مذکور تهیه شد. استاندارد صفر به‌عنوان بلانک دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. برای کالیبره کردن دستگاه اسپکتوفتومتر از تولوئن استفاده شد. غلظت پرولین بر اساس نمودار استاندارد پرولین به‌دست آمدو برحسب میکرومول بر گرم وزن تر از رابطه زیر (فرمول ۵) محاسبه گردید.

$$X = [(A\times B)/C]/(D/5)$$ (فرمول ۵):

X : مقدار پرولین برحسب میکرومول بر گرم، A: مقدار پرولین به دست آمده از منحنی استاندارد برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر (پیوست ۴)، B: مقدار تولوئن استفاده‌شده برحسب میلی‌لیتر، C: عدد مولکولی پرولین 115/13 g/µ molµ و D: مقدار نمونه‌ی گیاهی وزن شده برحسب گرم می‌باشد.

اندازه‌گیری نشت یونی

برای اندازه‌گیری نشت یونی ابتدا نیم گرم از قسمت وسطی نمونه‌های برگی تهیه شد. سپس نمونه‌ها پس از شستشو با آب مقطر درون فالکن‌های درپیچ دار قرار گرفت و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس فالکن‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدلLutron) اندازه‌گیری شد (EC_1). به‌منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت یونی در اثر مرگ سلول‌ها، لوله‌های آزمایش در دستگاه بن‌ماری در دمای نود درجه سانتی‌گراد به مدت نود دقیقه قرار داده شدند و پس از سرد شدن لوله‌ها، مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC_2). سپس درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر (۶) محاسبه شد (Ben Hamed *et al.*, 2007).

$$\text{درصد نشت یونی} = (EC_1/EC_2) \times 100$$ (فرمول ۶):

اندازه‌گیری نیتروژن گیاه

برای اندازه‌گیری نیتروژن از روش کجلدال استفاده شد (Bremner & Mulvaney, 1965). در روش کجلدال، ازت آمونیاکی ($N\text{-}NH_4$) ماده آلی بر اثر ترکیب با اسید سولفوریک غلیظ به‌صورت سولفات آمونیوم در می‌آید. آمونیوم حاصل شده پس از ترکیب با سود غلیظ در دستگاه تقطیر به گاز آمونیاک تبدیل می‌شود و سپس به‌وسیله‌ی اسید بوریک جمع‌آوری می‌شود. سرعت فعل و انفعالات فوق با افزایش دما و در حضور کاتالیزور فزونی می‌یابد. در عمل، به‌منظور افزایش دما، از سولفات پتاسیم و یا سولفات سدیم استفاده می‌شود. در پایان باز تشکیل شده با کمک اسید سولفوریک رقیق (۰/۰۵) تیتر گردید و بدین ترتیب مقدار کل ازت گیاه تعیین شد.

اندازه‌گیری کلسیم، پتاسیم، منیزیم و فسفر

برای اندازه‌گیری عناصر از روش هضم اسیدی (توسط اسید نیتریک) استفاده می‌گردد. ابتدا نیم گرم از نمونه‌ها توزین شد و داخل لوله‌های شیشه‌ای بلاک دستگاه دایجسشن (کوره یا هضم کننده) ریخته شد. سپس روی هر نمونه‌ی داخل لوله بیست میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ اضافه گردید و لوله‌های حاوی نمونه در داخل کوره قرار داده شد. ابتدا به‌مدت یک ساعت با پنجاه درجه سانتی‌گراد و در ادامه به‌مدت چهار ساعت با صد و پنجاه درجه سانتی‌گراد در دستگاه دایجسشن هضم گردید. در مرحله‌ی آخر بعد از خنک شدن، نمونه‌ها به‌صورت مایع کاملاً شفافی در آمدند و با کاغذ صافی واتمن چهل و دو صاف گردیدند و به حجم صد میلی‌لیتر رسانده شدند. در ادامه یک نمونه Blank (نمونه بدون نمونه‌ی گیاهی و فقط حاوی مواد مورد استفاده در آزمایشگاه) ساخته شد. در پایان غلظت عناصر انتخابی در این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (ICP-OES) اندازه‌گیری شد. دستگاه، غلظت نهایی فلز را در نمونه‌های فوق در حد قسمت در میلیون و یا قسمت در میلیارد محاسبه می‌کند. (Standard methods, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) اجرا شد. داده‌های حاصله با استفاده از آنالیز آماری ANOVA و توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹,۴) تجزیه شدند. آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت آماری بین میانگین تیمار در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (2010) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل شده از این تحقیق در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱: تجزیه‌ی واریانس تاثیر سطوح گوناگون بیوچار، اسید هیومیک و تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و میزان عناصر در گل آهار

		میانگین مربعات										
منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	نشت یونی	پرولین	نیتروژن	کلسیم	پتاسیم	منیزیم	فسفر
بیوچار	۲	۰/۰۰۹^{ns}	۰/۰۰۰۵^{ns}	۰/۰۱۴^{ns}	۰/۰۰۲۹^{ns}	۴۰۴/۹۳**	۵۴/۷۲^{ns}	۰/۰۵۳^{ns}	۱۹۹۷۴۷۱۴/۵^{ns}	۷۲۲۱۱۲۴۶/۷*	۲۵۶۵۳/۴^{ns}	۱۴۳۷۴۷^{ns}
اسید هیومیک	۲	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۰۵^{ns}	۰/۰۱۳^{ns}	۰/۰۰۱۰^{ns}	۳۲/۰۱^{ns}	۴۶/۲۱^{ns}	۰/۰۰۹^{ns}	۳۴۹۰۱۲۶۲/۸^{ns}	۱۳۷۸۸۸۰۰/۹^{ns}	۲۸۶۰۸۶/۷^{ns}	۱۳۸۴۶۴/۶^{ns}
خشکی	۱	۰/۱۹**	۰/۰۰۶**	۰/۲۷**	۰/۰۵۸*	۱۴۱۷/۰۱**	۵۹۳/۷۰**	۰/۱۲*	۶۴۸۳۴۹/۸^{ns}	۴۵۰۴۵۶۰۰^{ns}	۷۲۸۷۸۹۳/۴**	۲۰۵۳۷۴۰**
بیوچار× اسید هیومیک	۴	۰/۰۳۸*	۰/۰۰۱۸^{ns}	۰/۰۵۷*	۰/۰۱۴^{ns}	۲۶/۷۰^{ns}	۴۸/۸۲^{ns}	۰/۲۰**	۸۴۲۵۱۷۸/۸^{ns}	۱۹۹۵۲۱۲۷/۱^{ns}	۶۴۱۴۹۸/۹^{ns}	۷۶۹۳۴۴/۷**
بیوچار ×خشکی	۲	/۰۰۸۰^{ns} ۰	۰/۰۰۰۳^{ns}	۰/۰۱۱^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۳۱۷/۴۱*	۲۱/۰۸^{ns}	۰/۲۰**	۸۹۳۳۴۷۳/۶^{ns}	۴۰۰۱۹۱۳۵/۷^{ns}	۲۱۲۵۱۱/۶^{ns}	۲۸۹۶۶۵/۳^{ns}
اسید هیومیک × خشکی	۲	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۰۷^{ns}	۵۸/۷۹^{ns}	۹۴/۰۶*	۰/۰۷^{ns}	۲۱۴۰۱۰۹۷/۸^{ns}	۷۰۷۴۹۵۷/۶^{ns}	۱۸۰۴۸۶/۶^{ns}	۲۶۹۴۹۳/۸^{ns}
بیوچار × اسید هیومیک × خشکی	۴	۰/۰۳۶*	۰/۰۰۲*	۰/۰۵۵*	۰/۰۰۲۴^{ns}	۵۸/۱۰^{ns}	۴۳/۰۳^{ns}	۰/۰۰۷^{ns}	۸۸۳۱۶۷۷/۰۲^{ns}	۴۷۲۱۹۳۱۰/۳*	۲۴۷۰۳۳/۶^{ns}	۴۰۴۶۸۵*
خطا	۳۶	۰/۰۱۳	۰/۰۰۰۷	۶۲۷۱۷/۵۴	۲۸۰۸/۸۲	۶۴/۴۷	۱۸/۶۲	۰/۰۲۵	۱۲۴۱۱۷۰۲/۹	۱۴۳۳۰۵۰۰	۲۹۱۸۳۲/۶۳	۱۲۰۹۵۳/۷۸
ضریب تغییرات (٪)	-	۲۲/۸۳	۲۴/۶۳	۲۳/۲۶	۲۰/۵۲	۲۰/۸۱	۶۰/۷۵	۶/۵۴	۱۵/۲۴	۶/۸۵	۱۰/۵۹	۱۰/۵۶

**: در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است. *: در سطح ۵٪ معنی‌دار شده است. ^{ns}: عدم معنی‌داری

جدول ۲: مقایسه‌ی میانگین تأثیر سطوح بیوچار، اسید هیومیک و تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های گل آهار

تنش خشکی	اسید هیومیک	بیوچار	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)
		صفر	۰/۴۵abcd	۰/۰۹abc	۰/۵۴abcd	۴۷۰۶۱d	۳۶۰۷a
	صفر	۲۰	۰/۵۵ab	۰/۱۲a	۰/۶۷ab	۵۴۷۸۷abc	۳۵۹۶/۳ab
		۴۰	۰/۴۰bcd	۰/۰۸abc	۰/۴۸bcd	۵۶۶۴۱abc	۲۶۶۳/۳cd
		صفر	۰/۴۴abcd	۰/۰۹abc	۰/۵۴abcd	۵۴۶۱۹abc	۲۹۱۸/۳bcd
۵۰ درصد ظرفیت زراعی	۲۵۰	۲۰	۰/۲۴d	۰/۰۵c	۰/۳۰d	۵۲۶۵۷bcd	۳۴۶۶ab
		۴۰	۰/۵۳abc	۰/۱۲ab	۰/۶۶abc	۵۵۷۸۲abc	۲۴۶۷/۳d
		صفر	۰/۵۲abc	۰/۱۲۲ab	۰/۶۵abc	۴۹۴۴۵cd	۳۲۰۰abc
	۵۰۰	۲۰	۰/۵۴abc	۰/۱۱ab	۰/۶۵abc	۶۱۹۲۴a	۲۴۸۱d
		۴۰	۰/۳۱cd	۰/۰۶bc	۰/۳۸cd	۵۵۷۲۱abc	۳۴۷۳ab
		صفر	۰/۵۴ab	۰/۱۱ab	۰/۶۶۶ab	۵۴۹۲۵abc	۳۴۲۶ab
	صفر	۲۰	۰/۶۳a	۰/۱۳a	۰/۷۷a	۵۵۴۷۹abc	۳۲۲۸/۳abc
		۴۰	۰/۴۵abcd	۰/۰۹abc	۰/۵۵abcd	۵۶۴۴۷abc	۳۵۵۱/۳ab
		صفر	۰/۴۹abc	۰/۱۰abc	۰/۵۹abc	۵۶۵۲۰abc	۳۶۰۴/۳a
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی	۲۵۰	۲۰	۰/۶۰ab	۰/۱۳a	۰/۷۴ab	۵۸۲۰۴ab	۳۴۸۳/۳ab
		۴۰	۰/۵۷ab	۰/۱۱ab	۰/۶۹ab	۵۵۱۸۸abc	۳۲۰۵abc
		صفر	۰/۶۰ab	۰/۱۳a	۰/۷۳ab	۵۴۹۲۹abc	۳۵۵۷ab
	۵۰۰	۲۰	۰/۵۷ab	۰/۱۲ab	۰/۶۹ab	۵۳۳۷۲bcd	۳۴۴۳ab
		۴۰	۰/۶۱ab	۰/۱۳a	۰/۷۴ab	۶۰۰۱۴ab	۳۸۸۴/۳a

کلروفیل a

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشان داد که تنش خشکی روی میزان کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری داشت. با اعمال تنش خشکی میزان کلروفیل a کاهش پیدا کرد. بیوچار و اسید هیومیک هیچ‌کدام به‌تنهایی

اختلاف معنی‌داری بر میزان کلروفیل a نداشتند اما اثر متقابل این دو اختلاف معنی‌داری را در سطح پنج درصد نشان داد. اثر متقابل بیوچار، اسید هیومیک و تنش خشکی نیز در سطح پنج درصد معنی‌دار شد و نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴-۶) نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل a (۰/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به بیوچار بیست گرم در کیلوگرم و بدون کاربرد اسید هیومیک و رژیم آبیاری صد درصد ظرفیت زراعی و کمترین مقدارآن (۰/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به بیوچار بیست گرم در کیلوگرم و اسید هیومیک دویست و پنجاه میلی‌گرم در لیتر در تنش پنجاه درصد ظرفیت زراعی بود.

کلروفیل b

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول۴-۳) نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل b معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که در هنگام تنش خشکی میزان کلروفیل b کاهش می‌یابد. همچنین اثر متقابل بیوچار، هیومیک و تنش خشکی در سطح پنج درصد بر ویژگی مورد مطالعه معنی‌دار گردید. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل سه عامل (جدول ۴-۶) نشان داد بیشترین میزان کلروفیل b (۰/۱۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به بیوچار بیست گرم در کیلوگرم، اسید هیومیک دویست و پنجاه میلی‌گرم در لیتر و صد درصد ظرفیت زراعی و کمترین میزان (۰/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) آن در بیوچار بیست گرم در کیلوگرم، اسید هیومیک دویست و پنجاه میلی‌گرم در لیتر در تنش خشکی پنجاه درصد ظرفیت زراعی بود.

کلروفیل کل

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشان داد که تأثیر تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل کل کاهش یافت. اثر متقابل بیوچار و اسید هیومیک و اثر متقابل بیوچار، اسید هیومیک و خشکی در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین اثر متقابل سه عامل نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل (۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به بیوچار بیست گرم در کیلوگرم، اسید هیومیک صفر و صد درصد ظرفیت زراعی و کمترین میزان آن (۰/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به بیوچار بیست گرم در کیلوگرم، اسید هیومیک دویست و پنجاه میلی‌گرم در لیتر و تنش خشکی پنجاه درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۲).

کلروپلاست‌ها و تجزیه کلروفیل در اثر فعالیت آنزیم کلروفیلاز[1] و پراکسیداز ازجمله عوامل مؤثر بر کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش کمبود آب محسوب می‌شوند (سیروس مهر و همکاران، ۱۳۹۳). پیشنهاد شده است که پایداری کلروفیل می‌تواند به‌عنوان معیاری برای گزینش ارقام مقاوم به خشکی مورد استفاده قرار گیرد (Ajithkumar &Panneerselvam, 2014).

1-Chlorophyllase enzyme

کاهش میزان کلروفیل گونه‌های حساس به تنش می‌تواند در نتیجه تخریب ساختار ظریف کلروپلاست، تغییر نسبت چربی-پروتئین رنگیزه‌ها و یا افزایش فعالیت کلروفیلاز باشد. هر چه شدت تنش خشکی افزایش پیدا کند، محتوای رنگدانه‌ها کاهش پیدا می‌کند و احتمال کاهش بیشتر در کلروفیل b در مقایسه با کلروفیل a محتمل‌تر است (سیروس مهر و همکاران، ۱۳۹۳). کاهش مقدار کلروفیل a و کلروفیل b به‌عنوان مکانیسم حفاظت نوری به‌کار گرفته می‌شود تا با کاهش جذب نور، از زنجیره‌ی فتوسنتزی گیاه حفاظت نمایند (Salehi, 2003) . بهبود سنتز رنگدانه‌ها، هنگام تنش خشکی، در میان دیگر تغییرات، توانایی کاهش غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در بافت‌ها را دارد (Kiani *et al.*, 2008) و عمدتاً با تولید گونه‌های فعال اکسیژن در غشا تیلاکوئیدی صورت می‌گیرد (فرشادفر و محمدی، ۱۳۸۲).

Kholova و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه اثر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل در ارقام مختلف ارزن، بیان کردند که محتوای کلروفیل برگ در تمام ارقام کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد و نسبت کلروفیلa/b افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه کلروفیل b و کارتنوئیدها به‌عنوان رنگدانه کمکی برای انتقال انرژی در فتوسنتز عمل می‌کنند، نقش مؤثری در حفاظت از سامانه فتوشیمیایی و پایداری آن در شرایط تنش دارند (Farooq *et al.*, 2009). به‌نظر می‌رسد که افزایش نسبت کلروفیل b و کارتنوئیدها به کلروفیل a یک روش حفاظتی برای مقابله‌ی گیاه در برابر تنش خشکی باشد. تنش خشکی هم‌چنین با افزایش برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر اتیلن و آبسیزیک اسید، فعالیت کلروفیلاز را تحریک می‌کند و باعث تجزیه کلروفیل می‌گردد. بنابراین کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً می‌تواند به‌دلیل کاهش سنتز کلروفیل و افزایش تجزیه‌ی آن باشد.

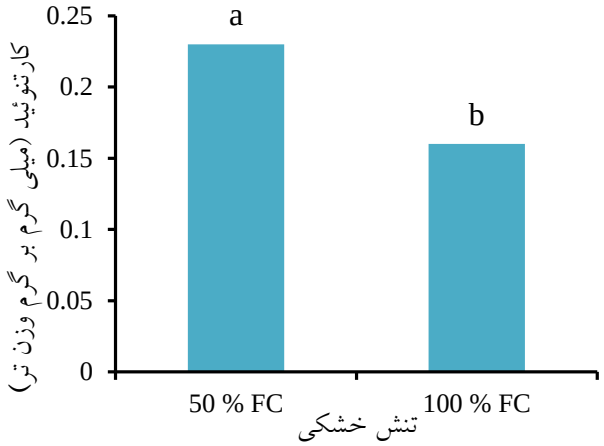
Karakurt و همکاران (۲۰۰۸) اعلام کردند که اسید هیومیک به‌طور معناداری محتوای کلروفیل برگ‌های فلفل را تحت تأثیر قرار داد و اثر خود را به‌طور اساسی بر محتوای کلروفیل b داشت. واکنش گیاه به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب وابسته است و می‌تواند به‌صورت پاسخ‌های فیزیولوژیک کوتاه‌مدت یا بلندمدت باشد. تغییرات محتوای رطوبت برگ و غلظت کلروفیل a و b به‌عنوان یک واکنش کوتاه‌مدت به تنش و معیاری از توان حفظ قدرت منبع در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Saneoka *et al.*, 2004). در آزمایشی Abou-aly و Mady (۲۰۰۹) افزایش ۳۳ تا ۳۸ درصدی کلروفیل a و ۲۷/۸-۱۰/۵۳ درصدی کلروفیل b را در اثر کاربرد اسید هیومیک گزارش کردند. در تحقیق حاضر روند افزایش میزان کلروفیل در محلول پاشی اسید هیومیک مشاهده نشد که با نتایج گزارش مذکور مغایرت داشت.

در آزمایشی دیگر اثر بقایای بیوچار و کمپوست شاخساره درخت برگ نو بر رشد گیاه ذرت تحت شرایط خشکی مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد که کلروفیل گیاه ذرت در خاک تیمار شده با بیوچار به‌طور معنی‌داری بیشتر از کمپوست و بقایای تازه است (مرادویسی، ۱۳۹۵). ترکیبات آللوکمیکال‌ها که سبب بروز آللوپاتی می‌شوند (که احتمالاً در بقایای اولیه و کمپوست وجود دارند) بر فرآیندهای مهم گیاهی تأثیرگذار هستند و باعث پاسخ‌های متنوع در گیاه می‌شوند که سبب پژمرده

شدن یا کلروز گیاه می‌گردند. این ترکیبات سبب کاهش فتوسنتز و اختلال در تنفس می‌شوند (مرادویسی، ۱۳۹۵). در این تحقیق نیز مشاهده می‌کنیم که در شرایط صد درصد ظرفیت زراعی تیمار بدون محلول‌پاشی اسید هیومیک و بیوچار بیست گرم در کیلو گرم دارای کلروفیل a و کلروفیل کل بیشتری نسبت به تیمار بدون بیوچار است (جدول ۲).

کارتنوئید

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشان داد که خشکی بر میزان کارتنوئید در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار شد اما بیوچار، اسید هیومیک و اثرات متقابل این عوامل هیچ‌کدام اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. با افزایش تنش خشکی میزان کارتنوئید نیز افزایش یافت (شکل ۱).



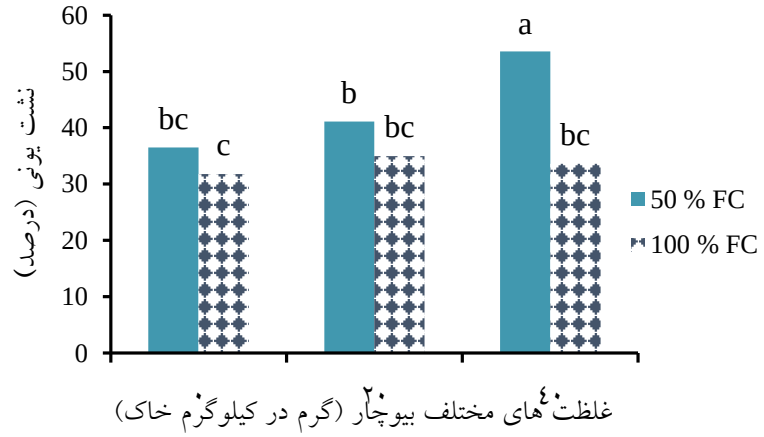
شکل ۱: تأثیر تنش خشکی برحسب درصد ظرفیت زراعی (FC) بر میزان کارتنوئید در گل آهار

کاروتنوئیدها شامل β کاروتن، گزانتوفیل‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست با وزن مولکولی کم در کلروپلاست هستند که غشاهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند. کاروتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند مستقیماً اکسیژن‌های آزاد را غیرفعال کنند (امینی و حداد، ۱۳۹۲). کاروتنوئیدها انرژی را از مولکول‌های تهییج شده و آزاد اکسیژن می‌گیرند و آن را به انرژی گرمایی تبدیل می‌کنند (Edreva, 2005 ;کافی و همکاران، ۱۳۹۱). به این ترتیب دستگاه فتوسنتزی را از شروع پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می‌کنند (امینی و حداد، ۱۳۹۲). افزایش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش با توجه به نقش آن‌ها در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل) قابل انتظار است. افزایش چشمگیر میزان کاروتنوئیدها در مرحله پرشدن دانه و همچنین افزایش آن تحت تنش خشکی، نشان‌دهنده‌ی نقش آن در تعدیل میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشد (نواب‌پور و همکاران، ۱۳۹۴).

گزارش‌های متعددی در مورد افزایش یا کاهش کارتنوئیدها در طی تنش خشکی وجود دارد. میزان کارتنوئیدها در تنش خشکی شدید به‌عنوان یک حامی کلروفیل می‌تواند افزوده شود تا مانع تخریب بیشتر کلروفیل گردد (Abdalla & El-Khoshiban, 2007) بررسی روی بابونه نشان داد که با افزایش کمبود آب از میزان کلروفیل کاسته شد و در مقابل بر مقدار کارتنوئید و آنتوسیانین برگ افزوده گردید (آرزمجو و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مبنی بر افزایش میزان کارتنوئید تحت تنش خشکی با یافته‌های این پژوهشگران همخوانی دارد. استفاده از بیوچار و اسید هیومیک تاثیر معناداری بر میزان کارتنوئید نداشت.

نشت یونی

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده‌ی بیوچار و خشکی روی صفت نشت یونی تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد داشت همچنین اثر متقابل بیوچار و خشکی اثر معنی‌داری در سطح پنج درصد بر روی نشت یونی نشان داد. محلول‌پاشی اسید هیومیک هیچ تأثیری روی میزان نشت یونی نداشت. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان نشت یونی بیشتر می شود. در بررسی اثر ساده‌ی بیوچار مشخص شد که با افزایش بیوچار میزان نشت یونی نیز بیشتر شد. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل نشان داد که بیشترین نشت یونی مربوط به بیوچار چهل گرم در کیلوگرم خاک و تنش خشکی پنجاه درصد ظرفیت زراعی بود (شکل ۲).



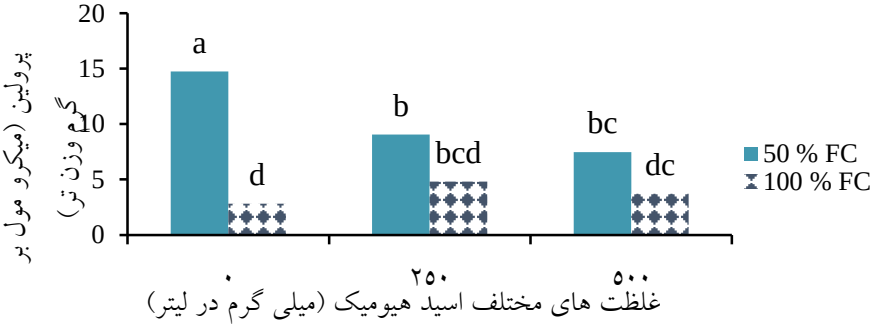
شکل ۲: تأثیر سطوح گوناگون بیوچار و تنش خشکی برحسب درصد ظرفیت زراعی (FC) **بر نشت یونی در گل آهار**

نشت یونی، نشان‌دهنده‌ی آن است که گیاهان تحت تنش در مقایسه با گیاهان شرایط معمول از هدایت الکتریکی (EC) بالاتری برخوردار هستند و این بالاتر بودن EC نشان دهنده‌ی پایین بودن پایداری غشای سیتوپلاسمی است. در شرایط تنش خشکی تجمع گونه‌های فعال اکسیژنی که طی تنش تولید می‌گردند به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدنوکلئیک صدمه می‌زنند (جباری و همکاران، ۱۳۸۵). بخش عمده‌ای از سلول‌های زنده از غشاهایی تشکیل شده‌اند که ساختمانی پویا دارند و دارای چرخه‌ی بازسازی چندساعته هستند. زمانی که سلول‌ها به‌شدت پسابیده می‌شوند آماس

آن‌ها از بین می‌روند، پروتوپلاست چروکیده می‌شود و پروتوپلاست در حال خشک شدن با کششی که نتیجه انقباض حجم و چسبیدگی آن به دیواره سلولی است مواجه خواهد شد (کافی و دامغانی، ۱۳۸۱). در تنش‌های شدید بعضی از قسمت‌های فسفولیپیدهای دولایه‌ای غشا، حالت هگزاگونال (کروی) به‌خود می‌گیرند و ساختار غشا به ساختار منفذدار تبدیل می‌شود و نشت مواد روی می‌دهد (میرجلیلی، ۱۳۸۴). بنابراین بررسی‌های انجام پذیرفته با نتایج این تحقیق مبنی بر افزایش میزان نشت یونی هنگام تنش خشکی همخوانی دارد.

پرولین

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشان داد که خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد روی میزان پرولین دارد. اثر متقابل خشکی و اسید هیومیک نیز در سطح پنج درصد معنی‌دار شد ولی بیوچار هیچ تأثیر معنی‌داری روی این صفت نداشت. با افزایش تنش خشکی میزان پرولین نیز به مقدار زیادی افزایش یافت. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل تنش خشکی و اسید هیومیک نشان داد که بیشترین مقدار پرولین (۱۴/۷۳ میکرومول بر گرم وزن تر) در خشکی پنجاه درصد ظرفیت زراعی و بدون محلول‌پاشی اسید هیومیک روی گیاه بود و به‌تدریج با محلول‌پاشی اسید هیومیک میزان پرولین نیز کاهش پیدا کرد به‌طوری‌که در گیاهان دارای تنش پنجاه درصد ظرفیت زراعی، کمترین میزان پرولین (۷/۴۷ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به محلول‌پاشی با صد میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک بود (شکل ۳). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسید هیومیک باعث کاهش خسارت تنش خشکی در گیاه و متعاقب آن کاهش تولید پرولین در گیاه شد.



شکل ۳: تأثیر سطوح گوناگون اسید هیومیک و تنش خشکی برحسب درصد ظرفیت زراعی (FC) بر میزان پرولین در گل آهار

سازوکار دفاعی گیاه در برابر تنش خشکی نیاز به نوعی سازش اسمزی دارد. این سازش اسمزی می‌تواند از طریق سنتز ترکیبات محلول درون‌سلولی تأمین گردد (Serrano *et al*., 1999). زمانی‌که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، تجزیه‌ی پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها تسریع می‌شوند. یکی از این آمینواسیدها، پرولین است (Barker *et al*., 1993). پرولین به‌عنوان یک ماده محلول سبب تنظیم فشار اسمزی، کاهش هدر رفت آب از سلول، حفظ آماس سلولی، کاهش تأثیر کندکنندگی یون‌ها روی فعالیت آنزیم‌ها، جلوگیری از تجزیه پروتئین‌های مختلف، افزایش پایداری برخی آنزیم‌های سیتوپلاسمی و

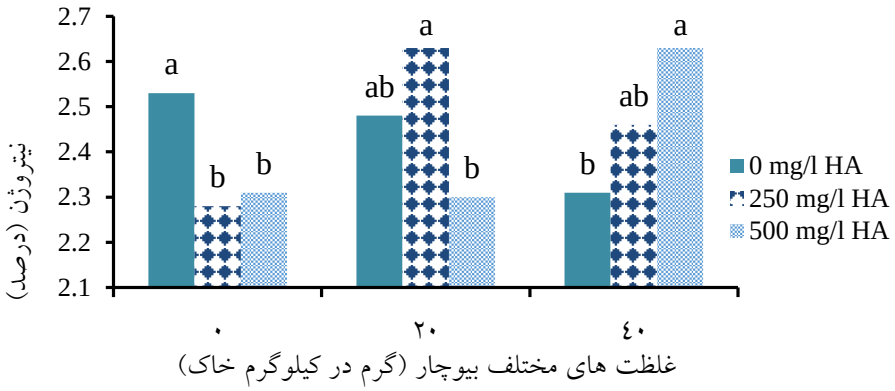
میتوکندریایی، پایداری شکل پروتئین‌ها و در نتیجه حفاظت سامانه‌های غشایی می‌شود(Barker *et al.*, 1993). افزایش پرولین با کاهش پتانسیل آب برگ آغاز می‌شود، که این افزایش منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشا در گیاهان می‌شود. به‌این ترتیب با روش تنظیم اسمزی تحمل به تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد (Rahdari & Hoseini, 2012). نقش حفاظتی پرولین به غیر از تنظیم اسمزی مربوط به توانایی این ماده در حفظ پایداری غشاهای سلولی و پروتئین‌ها، مهار کردن گونه‌های فعال اکسیژن و بافر کردن پتانسیل احیایی سلول، تحت شرایط تنش است (Matysik *et al.*, 2002). تجمع پرولین به‌دلیل تنش خشکی می‌تواند ناشی از تحریک سنتز آن یا جلوگیری از تجزیه آن و یا تجزیه پروتئین‌ها باشد (Gomes *et al.*, 2010). به گزارش Saneoka و همکاران (۲۰۰۴) تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به خشکی در تنش‌های خشکی و شوری ایجاد شده در گیاهان دارد. گزارش‌ها نشان داد که در تنش خشکی، غلظت پرولین ممکن است بین سه تا سیصد برابر افزایش یابد (Delauney & Verma, 1993). گیاهان تحت شرایط تنش خشکیمقادیر زیادی آنتی اکسیدانت‌های غیر آنزیمی مانند پرولین، برای بهبود مقاومت به خشکی تولید می‌کنند. پرولین مانع از اکسیداسیون داخل سلول‌های گیاهی تحت شرایط تنش خشکی می‌شود. استفاده از ترکیبات ارگانیک مانند اسید هیومیک یکی از روش‌هایی است که ممکن است بتواند باعث بهبود بهره‌وری مصرف آب و کاهش اثر تنش خشکی در گیاهان شود. طبق نتایج تحقیقات مشخص شده است که اسید هیومیک سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانت-ها، بهبود فعالیت فتوسیستم دو[1] و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در کلزا می‌شود (Lotfi *et al.*, 2015). تجمع ترکیباتی مانند پرولین تا حدی شرایط را برای جذب آب از محیط ریشه فراهم می‌آورد، اما اتکای گیاهان به این ترکیب هزینه‌بر است و سبب کاهش عملکرد می‌شود (Good & Zaplachiniski, 1994). بنابراین می‌توان انتظار داشت که در سطح بالای تنش خشکی، به‌کارگیری اسید هیومیک سبب کاهش تولید پرولین و کاهش اثر خشکی شود. نتایج این تحقیق با یافته‌های محققین دیگر (Zhu & Gong, 2005 ; Manivannan *et al.*, 2007) در مورد افزایش میزان پرولین در طی تنش خشکی همخوانی دارد. همچنین دالوند (۱۳۹۵) گزارش نمود که کاربرد اسید هیومیک سبب کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی و در نتیجه کاهش میزان پرولین در گیاه می‌شود که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

نیتروژن

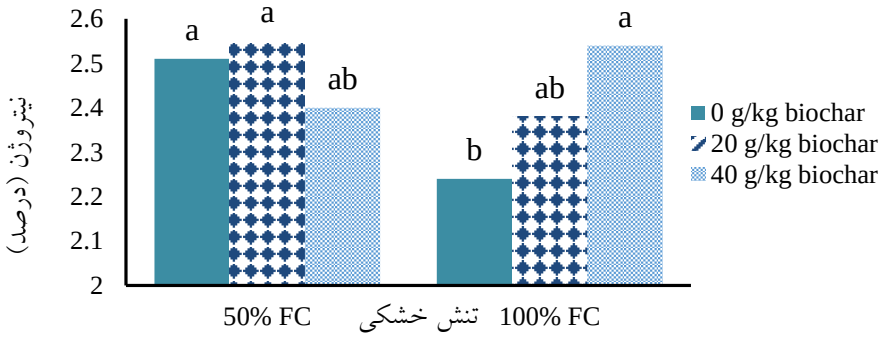
نتایج تجزیه‌ی واریانس عنصر نیتروژن نشان داد که تأثیر خشکی در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌داری است (جدول ۱). همچنین اثر متقابل بیوچار و اسید هیومیک و اثر متقابل بیوچار و تنش خشکی بر میزان نیتروژن در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش میزان نیتروژن می‌شود. در بررسی اثر متقابل بیوچار و اسید هیومیک مشخص شد که بیشترین میزان نیتروژن (۲/۶۳ درصد) در تیمارهای بیست گرم در کیلوگرم بیوچار و دویست و پنجاه میلی‌گرم

[1]- PSII

در لیتر اسید هیومیک و همچنین تیمار چهل گرم در کیلوگرم بیوچار و پانصد میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک بود. کمترین مقدار (۲/۲۸ درصد) نیز در تیمار بدون بیوچار و اسید هیومیک دویست و پنجاه میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۴). نتیجه می‌گیریم که بیوچار و اسید هیومیک در تعامل با یکدیگر باعث افزایش نیتروژن گیاه شدند. در مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل بیوچار و خشکی مشخص شد که در تنش پنجاه درصد ظرفیت زراعی، بیشترین میزان نیتروژن (۲/۵۵ درصد) در بیوچار بیست گرم در کیلوگرم و کمترین مقدار (۲/۴ درصد) مربوط به بیوچار چهل گرم در کیلوگرم بود و در رژیم آبیاری صد درصد ظرفیت زراعی، با افزایش مقدار بیوچار مقدار نیتروژن نیز بیشتر شد (شکل ۵).



شکل ۴: تأثیر سطوح گوناگون بیوچار و اسید هیومیک (HA) بر میزان نیتروژن در گل آهار



شکل ۵: تأثیر سطوح گوناگون بیوچار و تنش خشکی برحسب درصد ظرفیت زراعی (FC) بر میزان نیتروژن در گل آهار

اسید هیومیک باعث افزایش جذب نیتروژن می‌شود، این افزایش را می‌توان چنین نیز توجیه کرد که اسید هیومیک با افزایش جذب نیترات توسط افزایش بیان پروتئین حامل نیتروژن در سطح غشای سلولی و همچنین تغییر در میزان کاتیون‌ها جذب نیتروژن را افزایش می‌دهد. همچنین می‌توان اثر هورمونی شبه جیبرلین این ماده را در جذب نیتروژن مؤثر دانست Sharif (Nardi *et al.*, 2002). و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که کاربرد اسید هیومیک تجمع نیتروژن را در غلات در مقایسه با گیاهان تیمار نشده افزایش می‌دهد. Ayas و Gulser (۲۰۰۵) گزارش کردند که اسید هیومیک از راه افزایش در محتوای نیتروژن گیاه سبب افزایش رشد، ارتفاع و درنتیجه‌ی آن عملکرد زیست‌توده می‌شود. در بررسی دیگری، کاربرد اسید هیومیک در محلول غذایی

موجب افزایش محتوای نیتروژن در اندام هوایی و رشد شاخساره و ریشه در ذرت شد (Tan, 2003). در این تحقیق نیز با افزایش میزان اسید هیومیک میزان نیتروژن بافت‌ها افزایش یافت که با نتایج فوق همخوانی دارد.

طبق نتایج این تحقیق با افزایش کاربرد بیوچار میزان نیتروژن افزایش یافته است. در همین راستا نتایج مطالعات مختلف نیز نشان می‌دهد که کاربرد بیوچار سبب افزایش و بهبود کارآیی کودهای نیتروژنی در خاک‌های مختلف و در نهایت جذب بیشتر نیتروژن در گیاه می‌شود (Deenik *et al.*, 2010). Lehmann و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که با کاربرد بیوچار افزایش رشد گیاه به‌دلیل جذب بیشتر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی و مس می‌باشد. Nigussie و همکاران (۲۰۱۲) نیز بیان کردند که کاربرد بیوچار به مقدار قابل توجهی سبب افزایش جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم در کاهو می‌شود.

پتاسیم

نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) نشـــان داد اثر ســـاده‌ی بیوچار و اثر متقابل ســـه‌گانه‌ی بیوچار، اســـید هیومیک و خشکی در سطح پنج درصد روی میزان پتاسیم دارای اختلاف معنی‌داری بود. در مقایسه‌ی میانگین سه عامل مشاهده شد که بیشترین میزان پتاسیم (۶۱۹۲۴ قسمت در میلیون) در تیمار بیوچار بیست گرم در کیلوگرم، اسید هیومیک پانصد میلی‌گرم در لیتر و تنش پنجاه در صد ظرفیت زراعی و کمترین میزان آن (چهل و هفت هزار و ش صت و یک ق سمت در میلیون) در تیمار پنجاه در صد ظرفیت زراعی بدون بیوچار و بدون ا سید هیومیک بود (جدول ۲). پس می‌توانیم نتیجه بگیریم که بیوچار و ا سید هیومیک هر دو باعث افزایش جذب پتاسیم توسط گیاه شدند.

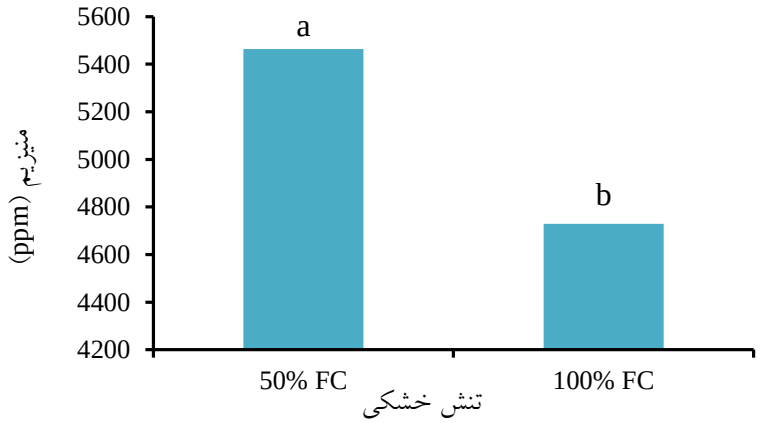
پتاسیم یک عنصر ضروری برای رشد و توسعه گیاهان و مهم‌ترین کاتیون وافر در گیاهان است و سه تا پنج درصد وزن خشک گیاه را پتاسیم تشکیل می‌دهد (Marschner, 1995). وجود پتاسیم کافی نقش مهمی در حفظ پتانسیل آب گیاه و جلوگیری از هدر رفتن آب دارد. از این‌رو در شرایط تنش آبی سبب حفظ فعالیت فتوسنتزی و جلوگیری از کاهش شدید فتوسنتز و تولید مواد فتوسنتزی می‌شود (دانشیان و همکاران، ۱۳۸۱). با افزودن بیوچارها به خاک به‌دلیل سطح ویژه‌ی بالا، ظرفیت تبادل کاتیونی زیاد، pH قلیایی و املاح محلول زیاد این ترکیب‌ها، تغییراتی در ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، زیستی و قابلیت استفاده عناصر غذایی به‌وجود می‌آید.

Olarieta و همکاران (۲۰۱۱) و نجفی قیری (۱۳۹۴) افزایش قابل توجهی در مقادیر شکل‌های مختلف پتاسیم و همچنین آزادسازی پتاسیم از کانی‌های خاک با کاربرد بقایای مختلف گیاهی و بیوچارهای حاصل از آن‌ها گزارش کرده‌اند. نجفی قیری (۱۳۹۴) افزایش ۴/۴ تا ۷ برابری پتاسیم محلول را در نتیجه افزودن بیوچار حاصل از بقایای گندم، پنبه، ذرت و کنجد به یک خاک آهکی گزارش کرد و بیان نمود که این افزایش با کاربرد بیوچار گندم و کنجد بیشتر از بیوچار ذرت و پنبه بود. افزایش پتاسیم محلول در نتیجه کاربرد بقایای گیاهی و بیوچار به ترکیب آن‌ها به‌ویژه مقدار پتاسیم موجود در آن‌ها، سرعت آزادسازی

پتاسیم و تأثیر ملکول‌های آلی بر آزادسازی پتاسیم از کانی‌های خاک، ارتباط دارد. به‌هرحال افزودن بیوچار به خاک می‌تواند تأثیرات مثبتی بر فعالیت قارچها و باکتری‌های خاک از طریق تأثیر بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، جذب ترکیب‌های سمی موجود در خاک و تغییر شرایط برای فعالیت بیشتر برخی میکروب‌ها داشته باشد (Warnock *et al.*, 2007). استفاده از کودهای آلی هیومیکی به‌طور غیرمستقیم از طریق فراهم آوردن عناصر معدنی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم و همچنین عناصر کم‌مصرف برای ریشه، بهبود ساختار خاک و افزایش نفوذپذیری بستر به آب‌وهوا، زیاد شدن جمعیت میکروبی و افزایش تبادل کاتیونی، باعث حاصلخیزی خاک و درنتیجه افزایش عملکرد و بهبود صفات کیفی در گیاه می‌شوند (Sharif *et al.*, 2002). تأثیر اسید هیومیک بر عملکرد جذب عناصر پرمصرف در نخود، نشان داد که جذب عناصر پرمصرف فسفر، پتاسیم ، کلسیم و منیزیم افزایش یافت و باعث وزن صد دانه و درنهایت افزایش عملکرد گردید (Saki Nejad *et al.*, 2011). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان‌دهنده‌ی افزایش میزان پتاسیم در نتیجه‌ی افزایش میزان کاربرد بیوچار و اسید هیومیک است که با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد.

منیزیم

نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد روی میزان منیزیم داشت اما بیوچار و ا سید هیومیک و اثرات متقابل آن‌ها هیچ‌کدام تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (جدول ۱). بیشترین میزان منیزیم (۵۴۶۳/۹ ق سمت در میلیون) در تنش خ شکی با پنجاه در صد ظرفیت زراعی و کمترین میزان آن (۴۰۷۲۹ ق سمت در میلیون) در صد درصد ظرفیت زراعی بود (شکل ۶).



شکل ۶: تأثیر تنش خشکی برحسب درصد ظرفیت زراعی (FC) بر میزان منیزیم در گل آهار

منیزیم یکی از عناصر ضروری رشد گیاه است و میزان جذب آن به‌وسیله کاتیون‌های دیگر از جمله پتاسیم، آمونیوم و کلسیم به‌شدت کاهش می‌یابد. اصلی‌ترین نقش منیزیم در گیاهان، شرکت در ساختمان کلروفیل است که حدود پانزده درصد کل منیزیم را تشکیل می‌دهد و این نسبت بستگی به میزان دسترسی گیاه به منیزیم دارد. به‌طوری‌که در شرایط کمبود، این نسبت

افزایش یافته و به حدود سی درصد منیزیم کل می‌رسد (Marschner, 1995). خشکی به چند طریق ممکن است بر وضعیت تغذیه‌ی معدنی گیاهان اثر داشته باشد؛ کاهش انتقال یون‌ها از خاک به ریشه‌ها، تغییر جذب یون‌ها به‌وسیله‌ی ریشه‌ها، تغییر تقاضای ریشه و اندام‌های هوایی برای یون‌ها، کاهش انتقال از طریق گیاه و کمبود یا تجمع یون‌هایی که ممکن است در متابولیسم اختلال ایجاد و یا پاسخ‌های سازش را القا کنند از جمله آنهاست (کافی، ۱۳۸۶).

طبق نتایج این تحقیق با افزایش شدت تنش رطوبتی میزان منیزیم برگ‌ها افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد که علاوه بر تأثیر تنش آب، عوامل دیگری چون غلظت بالای عنصر در خاک، میزان فراهمی دیگر عناصر، آنیونی یا pH ، محیط کاتیونی بودن عناصر و تک‌ظرفیتی و دو ظرفیتی بودن در رقابت بر سر مکان‌های جذب در غشاء ریشه، مؤثر باشند. Ma و همکاران (۲۰۰۴) افزایش مقدار منیزیم موجود در برگ در گونه‌های جنس براسیکا را تحت تنش خشکی گزارش نمودند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

فسفر

نتایج تجزیه‌ی واریانس فسفر نشان داد که تنش خشکی و اثر متقابل بیوچار و اسید هیومیک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان فسفر برگ‌ها هستند. همچنین اثر متقابل سه‌گانه‌ی بیوچار، اسید هیومیک و خشکی اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد داشتند (جدول ۱). بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها با افزایش تنش خشکی، میزان فسفر گیاه کاهش پیدا کرد. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل سه عامل نیز بیشترین میزان فسفر (سه هزار و هشتصد و هشتاد و چهار قسمت در میلیون) در رژیم آبیاری صد درصد ظرفیت زراعی با بیوچار چهل گرم در کیلوگرم خاک و اسید هیومیک پانصد میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان فسفر (دو هزار و چهار صد و شصت و هفت قسمت در میلیون) را در تنش خشکی پنجاه درصد ظرفیت زراعی با بیوچار چهل گرم در کیلوگرم خاک و اسید هیومیک دویست و پنجاه میلی‌گرم در لیتر نشان داد (جدول ۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش مقدار بیوچار (شرایط غیر تنش) و اسید هیومیک میزان فسفر گیاه نیز افزایش پیدا می‌کند.

در شرایط تنش خشکی، کاهش سرعت انتشار فسفر از خاک به سطح ریشه نسبت به سایر عناصر غذایی بیشتر است، چرا که یون فسفات به ذرات رس چسبیده و کمتر در دسترس ریشه‌ی گیاه قرار می‌گیرد. بررسی‌ها در مورد گیاه سویا در شرایط تنش خشکی نشان داده است که توانایی جذب فسفر توسط ریشه‌های این گیاه ضعیف می‌باشد، دلیل این موضوع کاهش قابلیت تحرک فسفر در خاک‌هایی با محتوای پایین آب است، چرا که محتوای آب خاک بر واکنش‌های تجزیه‌ای و فعالیت‌های بیولوژیکی آن تأثیرگذار است (Marschner, 1995). حدیدی (۱۹۹۹) دریافت که با کاهش پتانسیل آب نا شی از حل شدن

پلی‌اتیلن‌گلایکول در آب، جذب فسفر توسط ریشه گیاه لوبیا کاهش می‌یابد، وی دلیل این امر را ممانعت پلی‌اتیلن‌گلایکول از جذب و انتقال فسفر در آوندها و ساقه بیان کرد. در پژوهشی که باقری و حیدری شریف‌آباد (۱۳۸۶) به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر جو بدون پوشینه انجام دادند، مشاهده نمودند که با افزایش تنش خشکی غلظت فسفر در جو کاهش یافت. آنان بیان کردند که در شرایط تنش خشکی، به‌دلیل غیر متحرک بودن فسفر در خاک، کاهش رشد و فعالیت ریشه در نواحی خشک خاک و کاهش دسترسی به فسفر، جذب فسفر توسط گیاه کاهش می‌یابد. Lehmann و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که با کاربرد بیوچار افزایش رشد گیاه به‌دلیل جذب بیشتر فسفر، پتاسیم، کلسیم، روی و مس است. همچنین Inal و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که افزودن بیوچار سبب افزایش غلظت پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر و نیتروژن در گیاه لوبیا شد. Nigussie و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی بیان کردند که کاربرد بیوچار ساقه‌ی ذرت تولید شده در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد، فسفر قابل‌دسترس خاک را به‌میزان قابل‌توجهی افزایش داده است. این پژوهشگران بیان کردند که این افزایش ممکن است به‌دلیل غلظت بالای فسفر در بیوچار ساقه ذرت باشد. نتایج این تحقیق با یافته‌های این محققین همخوانی دارد.

David و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند استفاده از اسید هیومیک سبب افزایش رشد و جذب مواد غذایی می شود. این اثرات سودمند اسید هیومیک از طریق قدرت کلات کنندگی عناصر غذایی و اثر بر خصوصیات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه صورت می‌گیرد زیرا اسید هیومیک دسترسی به فسفر و سایر عناصر غذایی را افزایش می‌دهد. ترکیب‌های اسید هیومیک رشد و جمعیت بسیاری از ریزجانداران (میکروارگانیسم‌های) سودمند خاک را با تحریک کردن فعالیت آنزیم‌ها افزایش می‌دهند (Burkowska & Donderski, 2007) که با تحریک فعالیت میکروبی جذب عناصر کانی افزایش می‌یابد. ممکن است با تحریک فعالیت‌های میکروبیولوژی در خاک جذب عناصر غذایی بهبود یابد(Pettit, 2004). همچنین ترکیب‌های هیومیک روی فسفر محلول و فسفر قابل‌جذب مؤثر است (Guppy *et al.*, 2005). فتوسنتز فرایند پیچیده‌ای است که انرژی لازم برای رشد و تولیدمثل گیاه را فراهم می‌کند. کلروفیل رنگدانه اصلی جذب نور و فتوسنتز است. موادی نظیر فسفر، نیتروژن، پتاسیم و آهن در تشکیل کلروفیل نقش دارند که مصرف اسید هیومیک موجب فراهمی بیشتر این عناصر برای گیاه می‌گردد (Fernandez-Escobar *et al.*, 1996). گزارش شده است که اسیدهیومک دسترسی به فسفر و سایر عناصر غذایی را افزایش می‌دهد که این امر سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد گندم بهاره شده است (Jones *et al.*, 2007). نتایج این تحقیق با یافته‌های این محققین مبنی بر افزایش میزان فسفر گیاه در صورت استفاده از اسید هیومیک همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد تنش خشکی باعث کاهش میزان انواع کلروفیل، فسفر و پتاسیم ولی افزایش میزان کارتنوئید، نشت یونی، پرولین، نیتروژن و منیزیم شد. بیوچار تأثیر معنی‌داری بر نشت یونی و میزان پتاسیم داشت. استفاده از بیوچار باعث افزایش میزان پتاسیم و نشت یونی شد. اثر متقابل بیوچار و اسید هیومیک بر میزان کلروفیل a ، کلروفیل کل، نیتروژن و فسفر معنی‌دار بود. نتایج نشان داد استفاده هم‌زمان از بیوچار و اسید هیومیک در برخی از ویژگی‌ها مانند مقدار نیتروژن و فسفر اثر افزایشی و مثبتی دارد. استفاده از اسید هیومیک باعث بهبود مقابله با تنش و استفاده از آن تحت شرایط تنش توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

این تحقیق به‌عنوان بخشی از طرح پژوهشی به شماره ۹۶/۱۰۱۷۰ مورخ ۱۳۹۶/۹/۴ معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه اراک می باشد که بدین‌وسیله از همکاری ایشان تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

ابراهیم‌زاده ا و سیفی ی (۱۳۷۵). انبارداری و جابجایی گل‌های بریده، گیاهان سبز زینتی و گیاهان گلدانی (ترجمه). انتشارات اختر، تبریز، ص ۲۳۳.

امینی ز و حداد ر (۱۳۹۲). نقش رنگیزه های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی اکسیدان در مقابل تنش اکسیداتیو. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۶(۳): ۲۶۵-۲۵۱.

آرزمجو ا، حیدری م و قنبری ا (۱۳۸۹). بررسی تنش خشکی و سه نوع کود بر عملکرد گل، پارامترهای فیزیولوژیک و جذب عناصر غذایی در گیاه داروئی بابونه (Matricaria chamomilla L.) .تحقیقات گیاهان داروئی و معطر ایران، ۴: ۴۹۴-۴۸۲.

باقری ع ر و حیدری شریف اباد ح (۱۳۸۶). بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد و محتوی یون‌ها در گیاه جو بدون پوشینه (Hordeum sativum L.). مجله دانش نوین کشاورزی، ۳(۷): ۱۵-۱.

بیات ح، نعمتی ح.، تهرانی‌فر ع، وحدتی ن و سلاحورزی ی (۱۳۹۱). تأثیر سالیسیلیک اسید بر رشد و ویژگی‌های زینتی اطلسی ایرانی (Petunia hybrida) تحت شرایط تنش شوری . علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای .سال سوم، ۱۱: ۵۰-۴۳.

بیرقدار س، سلگی م، تقی‌زاده م و خدیوی ع (۱۳۹۵). بررسی تاثیر اسید فولیک در جوانه زنی، مراحل رشد و مقاومت به تنش در گل آهار. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه اراک.

جباری ح (۱۳۸۹). اثرات تنش کم آبی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و زراعی آفتابگردان هیبرید .پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان.

جباری ف، احمدی ع.، پوستینی ک . و علی‌زاده ه (۱۳۸۵). بررسی ارتباط فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت با پایداری غشای سلولی و کلروفیل در ارقام مقاوم و حساس به تنش خشکی . پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ، مجله علوم کشاورزی ایران، ۲(۱): ۳۱۶-۳۰۷.

حکمتی ج (۱۳۸۲) . گل‌های فصلی (گل‌های فضای آزاد). نشر علوم کشاورزی. ص ۲۸۵.

حیدری م و میری‌آزادمینایی ح ر (۱۳۹۲). فعالیت آنتی‌اکسیدان و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی(Borago officinalis L.) در واکنش به تیمارهای تنش خشـکی و اسیدهیومیک. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۶(۲):۱۷۰-۱۵۹.

خدابنده ن و جلیلیان ع (۱۳۷۶). بررسی اثر تنش خشکی در مراحل رشد زایشی بر جوانه‌زنی و قدرت بذر سویا. مجله علوم کشاورزی، جلد ۲۸(۱): ۱۹-۱۱.

دالوند م (۱۳۹۵). تاثیر اسید هیومیک بر جوانه زنی بذرها، شاخص‌های رشدی و تنش خشکی در گل جعفری. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه اراک.

دانشیان ج، مجیدی هروان ا و جنوبی پ (۱۳۸۱). تأثیر تنش خشکی و مقادیر مختلف پتاسیم بر خصوصیات کمی و کیفی سویا. علوم کشاورزی. (۸)۱: ۱۰۸-۹۵.

سیروس مهر ع، باردل ج، و محمدی س (۱۳۹۳). تغییرات خصوصات جوانه‌زنی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلرنگ تحت تاثیر تنش‌های خشکی و شوری. نشریه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۸(۴): ۵۳۴-۵۱۷.

فرشادفر ف و محمدی ر (۱۳۸۲). ارزیابی شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی در آگروپیرون با استفاده از شاخص انتخاب چندگانه. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۴(۳): ۶۴۶-۶۳۵.

قاسمی قهساره م و محمدی ر (۱۳۷۸). اصول به‌نژادی و تولید بذر در گیاهان زینتی. انتشارات علم آفرین، اصفهان، ص ۲۶۸.

قاسمی قهساره م. و کافی م (۱۳۹۰). گلکاری علمی و عملی. جلد اول، انتشارات رضوی، ص ۲۰۲.

قاسمی قهساره، م. و م. کافی (۱۳۹۱). گلکاری علمی و عملی. جلد اول. صفحه ۲۱-۱۹.

کافی م، ا برزویی ا، صالحی م، کمندی ع، معصومی ع، نباتی ج. فیزیولوژی تنش های محیطی در گیاهان (۱۳۹۱). دانشگاه فردوسی مشهد.ص ۵۰۲.

کافی م، برزوئی ا، صالحی م، کمندی ع. معصومی ع. نباتی ج (۱۳۸۸). فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ص ۵۰۲.

کافی م، زند ا. کامکار ب، شریفی ح، گلدانی م (۱۳۸۰). فیزیولوژی گیاهی(ترجمه)، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۲۰: ۳۷۸.

کافی م، و مهدوی دامغانی ع (۱۳۸۱). مکانیسم مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی. تألیف آمارجیت بسرا و رانجیت بسرا. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ص۴۷۲.

کافی م، و مهدوی دامغانی ع (۱۳۸۶). مکانیسم‌ها ی مقاومت گیاها ن به تنش‌های محیطی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ص ۴۶۷.

مرادویسی ا (۱۳۹۵). اثر بقایا، بیوچار و کمپوست شاخساره درختچه برگ نو(Ligustrum) بر رشد گیاه ذرت تحت تنش خشکی در دو خاک با بافت متفاوت. دانشگاه صنعتی اصفهان، پایان نامه کارشناسی ارشد، ص ۷۰.

موحدی‌دهنوی م. مدرس‌ثانوی س ع م. سروش‌زاده ع. و جلالی م (۱۳۸۳). تغییرات میزان پرولین، قندهای محلول کل، کلروفیل(SPAD) و فلورسانس کلروفیل در ارقام گلرنگ پائیزه تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی روی و منگنز. بیابان، ۳(۱): ۱۰۹-۹۳.

میرجلیلی ع (۱۳۸۴). گیاهان در محیط‌های تنش زا. انتشارات نوربخش. تهران، ص۲۴۰.

نجفی قیری م (۱۳۹۴). تأثیر کاربرد بیوچارهای مختلف بر برخی ویژگی‌های خاک و قابلیت جذب بعضی از عناصر غذایی در یک خاک آهکی. نشریه پژوهش‌های خاک، ۲۹(۳): ۳۵۸-۳۵۱.

نواب‌پور س، رمضانپور س و مازندرانی ا (۱۳۹۴). ارزیابی تغییرات سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی ارقام سویا در واکنش به تنش خشکی طی مراحل رشد زایشی. دوفصلنامه فناوری تولیدات گیاهی، ۷(۲): ۵۴-۳۹.

وفابخش ج، نصیری‌محلاتی م. و کوچکی ع ر (۱۳۸۷). اثر تنش خشکی بر عملکرد و کارآیی مصرف نور در ارقام کلزا (Brassica napus L.). پژوهش‌های زراعی ایران، ۶(۱): ۲۰۴-۱۹۳.

Abdalla, M.M. and El- Khoshiban, N.H. (2007). The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two Triticum aestivum cultivars. J. Appl. Sci. Res., 3 (12): 2062- 2074.

Abedi T. and Pakniyat H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (Brassica napus L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46: 27-34.

Abou-Aly H.E. and Mady, M.A. (2009). Complemented effect of humic acid and biofertilizers on wheat (Triticum aestivum L.). Productivity. Annals of Agric. Sci., Moshtohor, 47 (1):1-12.

Aiken, G.R, McKnight, D.M., Wershaw, R.L. and Mccarthy, P. (1985). Humic substances in soil, sediment and water. Wiley-Interscience, New York. U.S.A.

Ajithkumar, I.P., and Panneerselvam, R. (2014). ROS scavenging system, osmotic maintenance, pigment and growth status of Panicum sumatrense roth. Under drought stress. Cell Biochemistry and Biophysics, 68(3): 587-595.

Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plant. Agronomy Journal, 23:112-121.

Ayas, H. and Gulser, F. (2005). The effect of sulfur and humic acid on yield components and macronutrient contents of spinach. Journal of Biological Sciences, 5(6): 801- 804.

Barker, D.J., Sullivan, C.Y. and Moser, L.E. (1993). Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity, and proline in five forage grasses. Agronomy journal, 85(2): 270-275.

Basso, A.S., Miguez, F.E. Laird, D.A. Horton, R. and Westgate, M. (2013). Assessing potential of biochar for increasing water holding capacity of sandy soils. Global Change Biology Bioenergy, 5:132-143.

Bates, L.S., Waldren, RP, Teare, I.D. (1973).Rapid determination of free prolin for water-stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.

Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly, C. (2007). Sea fennel (Crithmum maritimum L.) under salinity conditions: a camparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation, 53: 185-194.

Bremner, J.M., and Mulvaney, C.S. (1965). Nitrogen-Total. In: Methods of soil analysis: part 2, Chemical and Microbiological Properties. Page, A. L. (Ed). 1982. Second Edition. American Society of Agronomy Inc. Madison, Wisconsin USA. Agronomy Series, 9 (2): 596-622.

Burkowska, A. and Donderski, W. (2007). Impact of humic substances on bacterioplankton in eutrophic lake. Polish journal of Ecology, 55(1), 155-160.

Chen, H.X., Du, Z.L., Guo, W. and Zhang, Q.Z. (2011). Effects of biochar amendment on cropland soil bulk density, cation exchange capacity, and particulate organic matter content in theNorth China Plain. The Journal of Applied Ecology, 22: 2930-2934.

David, P.P., Nelson, P.V. and Sanders, D.C. (1994). A humic acid improves growth of tomato seedling in solution culture. J. Plant. Nutr., 17: 173-184.

Deenik, J.L., McClellan, T., Uehara, G., Antal, M.J. and Campbell, S. (2010). Charcoal volatile matter content influences plant growth and soil nitrogen transformations. Soil Science Society of America Journal, 74: 1259-1270.

Deenik, J.L. Diarra, A. Uehara, G. Campbell, S. Sumiyoshi, Y. and Antal, M.J. (2011). Charcoal ash and volatile matter effects on soil properties and plant growth in an acid Ultisol. Soil Science, 176: 336–345.

Delauney, A.J. and Verma, D.P. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. The Plant Journal, 4: 215-223.

Dole, J.M. and Wilkins, H.F. (2005). Floriculture: Principles and Species. Prentice Hall, USA, pp: 432-448.

Edreva, A. (2005). The importance of non-photosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection. Agriculture, ecosystems & environment, 106(2): 135-146.

Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita and S. M. A. Basra. 2009. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 29: 185-212.

Fernandez-Escobar, R., Benlloch, M., Barranco, D., Duenas, A., and Guterrez Ganan, J.A. (1996). Response of olive trees to foliar application of humic substance extracted from leonardite. Scintia Horticulturae, 66: 191-200.

Gomes, F.P., Oliva, M.A., Mielke, M.S., Almeida, A.A.F. and Aquino, L.A. (2010). Osmotic adjustment, proline accumulation and membrane stability in leaves of Cocos nuciera submitted to drought stress. Scientia Horticulturae. 126: 379- 384.

Good, A. and Zaplachiniski, S. (1994). The effects of drought on free amino acid accumulation and protein synthesis in Brassica napus. Physiologia Plantarum, 90: 9-14.

Guppy C.N, Menzies N.W Moody P.W. and Blamey F.P.C (2005). Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil: A review. Soil Research, 43, 189-202.

Inal, A., Gunes, A., Sahin, O., Taskin, M.B. and Kaya, E.C. (2015). Impacts of biochar and processed poultry manure, applied to a calcareous soil, on the growth of bean and maize. Soil Use and Management, 31: 106–113.

Jones, C.A., Jacobsen, J.S. and Mugaas, A. (2007). Effect of low-rate commercial humic acid on phosphorus availability, micronutrient uptake, and spring wheat yield. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 38(7-8): 921-933.

Karakurt, Y., Unlu, H., Padem, H. (2008). The influence of foliar and soil fertilization humic acid on yield and quality of pepper. Plant Soil Sci., 233-237.

Kholova, J., Hasan, C.T.M., Khocova, M. and Vadie, V. (2011) Doesa terminal drought tolerance QTL contribute to differences in ROS scavenging enzymes and photosynthetic pigments in pear millet exposed to drought. Journal of Environmental and Experimental Botany, 71: 99-106.

Kiani, S.P., Maur, P., Sarrafi, A. and Grieu, P. (2008). QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (Helianthus annuus L.) under well-watered and water-stressed conditions. Plant Science. 175, 565–573.

Laird, D.A., Fleming, P., Davis, D.D., Horton, R., Wang, B. and Karlen D.L (2010). Impact of biochar amendments on the quality of a typical Midwestern agricultural soil. Geoderma, 158: 443-449.

Lehmann, J., Czimnik, C., Laird, B. and Sohi, S. (2009). Biochar for environmental management: science and technology. London: Earthscan, pp: 183-264.

Lehmann, J., Da Silva, J.P., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W. and Glaser, B. (2003). Nutrient availability and leaching in an archaeological anthrosol and a ferralsol of the central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. Plant and Soil, 249: 343–357.

Lehmann, J. and Joseph, S. (2009). Biochar for environmental management- an introduction. In: Lehmann J. and Joseph S. (Eds). Biochar for environmental management: Science and Technology. Earthscan, London, pp. 1–11.

Lotfi, R., GharaviKouchebagh, P. and Khoshvaghti, H. (2015). Biochemical and Physiological Responses of Brassica napus Plants to Humic Acid under Water Stress. Russian Journal of Plant Physiology, 62(4): 480–486.

Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.A. and Panneerselvam., R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in Helianthus annuus L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 59(2): 141-149.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Academic press San Diego, USA.

Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. London, 549-561. Hadidi A. 1999. Germination and early growth of tea common bean cultivars as affected by water stress and seedsize. Direct Agricultural Science, 26: 23-25.

Martinsen, V., Mulder, J., Shitumbanuma, V., Sparrevik. M., Børresen, T. and Cornelissen, G. (2014). Farmer led maize biochar trials: Effect on crop yield and soil nutrients under conservation farming. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 177: 681-695.

Matysik, J., Alia, B., and Mohanty, P., 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science, 82(5): 525-532.

Muscolo, A., Sidari, M. and Nardi, S. (2013). Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. Journal of Geochemical. Exploration, 129: 57-63.

Nardi S, D, Pizzeghello A. Muscolo and A. Vianello (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biol. Biochem., 34: 1527-1536.

Nayyar, H., Kaur, S., Kumar, S.S., Singh, K.J. and Dhir, K.K. (2005). Involvement of polyamines in the contrasting sensitivity of chickpea (Cicer arietinum L.) and soybean (Glycine max) to water deficit stress. Botanical Bulletin of Academic Sinica, 46: 333-338.

Nigussie, A., Endalkachew Kissi, E., Misganaw, M. and Ambaw, G. (2012). Effect of biochar application on soil properties and nutrient uptake of lettuces (Lactuca sativa) grown in chromium polluted soils. American-Eurasian Journal of Agriclture and Environment Science, 12(3): 369-376.

Olarieta, J.R., Padrò, R., Masip, G., Rodríguez-Ochoa, R. and Tello, E. (2011). 'Formiguers', a historical system of soil fertilization (and biochar production?). Agriculture, Ec osystemsand Environment. 140: 1. 27-33.

Pazuki, A., Asghari, J., Sohani, M., Pessarakli, M. and Aflaki, F. (2015). Effects of Some Organic Nitrogen Sources and Antibiotics on Callus Growth of Indica Rice Cultivars (PDF). Journal of Plant Nutrition 38 (8): 1231–1240. doi:10.1080/01904167.2014.983118. Retrieved June 4, 2016.

Pettit, RE. (2004). Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin: their importance in soil fertility and plant health [Online]. Available at www.humate.info/mainpage.htm.

Rahdari, P. and Hoseini, S.M. (2012) Drought Stress: A Review. Inter. J. Agron. Plant Prod. 3: 10. 443-446..

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M. (2004). Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161: 1189- 1202.

Rodriguez, M., Canales, E. and Borras-Hidalgo, O. (2005). Molecular aspects of abiotic stress in plants. Biotecnologia Aplicada, 22: 1-10.

Saki Nejad, T., Hossaini, S.M. and Hyvari, M. (2011). Calculate changes of bean germination process in the presence of various compounds of biological fertilizer Humic acid mixed with micro and macro elements. Journal of American Science, 7(6): 1014-1021.

Salehi, S.P. (2003). Izozyme diversity of peroxidase, leucine aminopeptidase and glutamate oxaloacetate transaminase of fagus orientalis lipsky in beech forests of Iran: 1-15.

Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S. and Fujita, K. (2004). Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in Agrostis palustris Huds. Environmental and Experimental Botany, 52: 131–138.

Serrano, R., Culianz-Macia, F. and Moreno, V. (1999). Genetic engineering of salt and drought tolerance with yeast regulatory genes. Journal of the American Society of Horticultural Science, 78:261-269.

Sharif, M., Khattak, R.A. and Sarir, M.S. (2002). Effect of different levels of lignitic coal drive humic acid on growth of maize plants. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 33: 3567-3580.

Standard methods for the examination of water & wastewater , 3030 -21st Edition, (2005)

Sun, Z., Bruun, E.W., Arthur, E., De Jonge, L.W., Moldrup, P., Hauggaard-Nielsen, H. and Elsgaard, L. (2014). Effect of biochar on aerobic processes, enzyme activity, and crop yields in two sandy loam soils. Biology and Fertility of Soils, 50:1087-1097.

Tan, K.H. (2003). Humic Matter in Soil and the Environment. Marcel Dekker, New York

Vieira, R.D., Teerony, D.M. and Egli, D.B. (1991). Effect of drought stress on soybean seed germination and vigor . J. Seed Technol., 16: 12-21.

Warnock, D.D., Lehmann, J., Kuyper, T.W. and Rillig, M.C. (2007). Mycorrhizal responses to biochar in soil–concepts and mechanisms. Plant and soil, 300: 1. 9-20.

Zhu, X. and Gong, H.G. (2005). Different soluble levels in two spring wheat cultivars induced by progressive field water stress at different development stages. Journal of Arid Environments, 62: 1-14.

The application of Biochar with Humic acid for increasing of resistance to drought stress in Zinnia

S. Keshavarz Fard[1], M. Solgi[2*], H. Bagheri[3], I. Shahrjerdi[4]

Received:2019.2.8
Accepted:2019.12.7

Abstract

Application of Humic acid and Biochar added to the soil, could be used as an effective way to reduce the harmful effects of drought stress in *Zinnia elegans*. The effects of three factors: Biochar (three levels 0, 20 and 40 g / kg of potting soil), Humic acid (three levels 0, 250 and 500 mg / L, soluble) and two irrigation levels (50 and 100% crop capacity) were studied in this experiment. According to the results, drought stress reduced the amount of Chlorophyll, Phosphorus and Potassium contents of leaves, but increased amount of Carotenoids, ion leakage, Proline, Nitrogen and Magnesium elements. The use of Biochar increases Potassium and ion leakage. Humic acid reduced the content of proline in the studied plants, and reducing the drought stress in the studied plants. The effect of application of Biochar and Humic acid on the amount Chlorophyll and total Chlorophyll, nitrogen and Phosphorus showed significant difference. The use of Humic acid causes drought stress control and its use under drought stress conditions is recommended. The use of Biochar is advisable in the Phosphorus and Nitrogen deficiencies.

Key words: ***Biochar, Drought stress, Humic acid, Zinnia elegans.***

1-MSC of Horticultural Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University
2-Assistant Professor, Arak University, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Horticultural EngineeringHYPERLINK
*(Corresponding Author: M- solgi@araku.ac.ir)
3-Master of Horticultural Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University
4-Master of Horticultural Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University