گل و گیاهان زینتی (۱۴۰۲)، ۸(۱): ۲۱- ۴۶
مقاله پژوهشی

اثر تعدیل‌کننده بیوچارِ پوسته برنج بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جعفری آفریقایی (*Tagetes erecta* L.) در شرایط تنش خشکی

مریم توکلی والا[۱]، فرزاد نظری[۱]*، سیروان بابایی[۲]

۱. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج
۲. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج
f.nazari@uok.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۳۰

چکیده

گل‌های فصلی، از عناصر اصلی در احداث فضای سبز می‌باشند که کشت آن‌ها با تنش خشکی محدود می‌شود. به‌نظر می‌رسد بهبود محیط کشت این گل‌ها با مواد آلی مانند بیوچار (زغال زیستی)، می‌تواند یک راهکار پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای افزایش تحمل به تنش خشکی باشد. در همین راستا، پژوهشی گلخانه‌ای برای بررسی اثرهای خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جعفری آفریقایی با کاربرد بیوچار پوسته برنج انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو عامل تیمار آبیاری در سه سطح ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه و کاربرد بیوچار در سه سطح صفر، ۳/۵ و ۷٪ وزنی در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی با ۵ تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش ویژگی‌های ریخت‌شناسی ارتفاع گیاه، وزن خشک شاخساره، تعداد برگ، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد گل، و طول و قطر گل شد به‌طوری‌که کمترین مقدار آن‌ها در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه به‌دست آمد. همچنین، کاربرد بیوچار باعث افزایش ویژگی‌های ریخت‌شناسی بیان‌شده در شرایط تنش خشکی شد. مقدار سبزینه a، سبزینه b، سبزینه کل، کاروتنوئید، پراکسیدهیدروژن، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و کربوهیدرات‌های محلول کل و نیز فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در شرایط خشکی افزایش یافتند و کاربرد بیوچار باعث کاهش مقادیر این ویژگی‌ها در شرایط خشکی شد. همچنین، محتوای نسبی آب برگ، شاخص‌پایداری غشاء یاخته‌ای و پروتئین‌های محلول کل در شرایط خشکی روند کاهشی نشان دادند که استفاده از بیوچار باعث بهبود این ویژگی‌ها در شرایط تنش خشکی شد. به‌طورکلی اثرگذاری مقدار ۷٪ وزنی بیوچار در مقایسه با ۳/۵٪ آن در کاهش اثرهای نامناسب تنش خشکی بیشتر بود. بنابراین، به‌طورکلی می‌توان بیوچار پوسته برنج به مقدار ۷٪ وزنی را به‌عنوان یک بهبوددهنده مناسب خاک، برای افزایش تحمل به تنش خشکی در گل‌های فصلی برای کشت در فضای سبز، توصیه کرد هرچند که نیاز به بررسی‌های بیشتر هم به‌صورت کشت مزرعه‌ای و هم در مقدارهای دیگر کاربرد، می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، زغال زیستی، کم‌آبی، گل‌های فصلی.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

مقدمه

فضای سبز (منظر یا پردیسه)[۱] از مهم‌ترین سامانه‌های حیات‌بخش جامعه انسانی به شمار می‌رود و از دیرباز تاکنون تکیه‌گاه استواری برای تداوم و ارتقای سطح کیفی زندگی بشر بوده و اهمیت آن در فعالیت‌های زیستی، محیطی، اجتماعی و روانی کاملاً مشهود می‌باشد (Zollinger *et al.*, 2006). گل‌های فصلی (باغچه‌ای و یا بسترساز) از اجزاء اصلی طراحی فضاهای سبز هستند و درواقع می‌توان از آن‌ها به‌عنوان پُرکننده‌های موقت فضاها[۲] بهره برد (Scarfone, 2007). به‌طورمعمول این گیاهان همواره در فضای سبز در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند بیماری‌ها، شوری، سرما، گرما، کمبود مواد غذایی، سمیت عناصر و همچنین خشکی قرار می‌گیرند. تنش خشکی، از مهم‌ترین و شایع‌ترین تنش‌های محیطی است که در حدود ۲۵٪ تولید محصول را در زمین‌های کشاورزی جهان محدود می‌کند. بیش از یک‌چهارم سطح کره زمین در مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار دارد و طبق برآوردها، حدود یک‌سوم از زمین‌های قابل‌کشت دنیا با کمبود آب روبرو هستند (Alexieva *et al.*, 2001). خشک‌سالی، کاهش مقدار بارندگی، افزایش جمعیت، تغییرهای اقلیمی، بهره‌برداری‌های گسترده و غیرمجاز از آب‌های زیرزمینی و افت کیفیت آب موجود براثر شوری و آلودگی، ازجمله چالش‌هایی می‌باشند که گسترش بخش کشاورزی را با مشکل روبه‌رو کرده است (Alizadeh *et al.*, 2011).

ایران با میانگین بارندگی ۲۵۰ میلی‌متر در سال جزء مناطق خشک جهان طبقه‌بندی می‌گردد و نزدیک به ۶۵٪ از زمین‌های کشور را نواحی خشک یا نیمه‌خشک تشکیل داده است (Rahimiyan & Banayan, 1996). ازاین‌رو، گسترش بخش کشاورزی که از بخش‌های مهم و حیاتی اقتصاد کشور بوده با چالش جدی روبه‌رو می‌باشد (Karthikeyan *et al.*, 2009). خشکی بسته به‌شدت و مدت تنش، ژنوتیپ و مرحله رشدی گیاه، از طریق اثر بر فرآیندهای ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، رشد و عملکرد گیاه را کاهش می‌دهد. یکی از اولین پاسخ‌ها به تنش خشکی کاهش رشد گیاه است (Yin *et al.*, 2005). جلوگیری از رشد برگ‌ها و توسعه روزنه‌ها، منجر به کاهش مقدار نورساخت و نیز کاهش انباشت زیست‌توده[۳] می‌شود که درنتیجه آن کاهش رشد در گیاه مشاهده می‌شود (Tardieu *et al.*, 2014). از دیگر تغییرهای بیوشیمیایی، انباشت رادیکال‌های آزاد در خشکی است. الکترون‌های به‌وجودآمده از زنجیره انتقال الکترونی، می‌توانند با اکسیژن مولکولی واکنش نشان داده و تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید و پراکسیدهیدروژن و رادیکال هیدروکسیل نمایند. این رادیکال‌ها بسیار واکنشگر و سمی هستند و به ساختارهای لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌زنند و سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شوند (Waseem *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012). افزون بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن که یک اثر عمومی در تنش‌های غیر زیستی می‌باشد، تنش خشکی، دیگر مسیرهای مهم در گیاهان مانند تنفس، سوخت‌وساز نیتروژن، تولید پروتئین و چندین فرآیند دیگر را به‌گونه‌ای مخرب تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gill & Tuteja, 2010).

با توجه به شرایط اقلیمی کشور و روبه‌رو شدن با دوره‌های خشک‌سالی، راهکارهایی مانند مصرف بهینه آب، بهبود کارایی مصرف آب با تعیین میزان نیاز واقعی گیاهان، گزینش گیاهان با نیاز آبی کمتر یا متحمل به خشکی، به‌کارگیری روش‌های نوین در سازگاری گیاهان به تنش خشکی مانند انتقال ژن‌های مقاوم به خشکی، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، تقویت همزیستی

۱- Landscape
۲- Temporary space fillers
۳- Biomass

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

گیاه با میکروارگانیسم‌ها و استفاده از مواد کاهش‌دهنده تعرق می‌توانند در بهبود عملکرد گیاهان و کاهش مصرف آب مؤثر باشند (Asghari, 2013). در همین راستا، یکی از راهکارهای کاربردی برای حفظ گل‌های فصلی در برابر تنش خشکی و افزایش نگهداشت آب در محیط کشت، استفاده از مواد آلی در محیط کشت می‌باشد. یکی از این مواد آلی مورداستفاده در خاک بیوچار می‌باشد. بیوچار ماده جامد سیاه‌رنگ غنی از کربن پایدار، متخلخل و ریزدانه می‌باشد که درنتیجه سوزاندان مواد آلی در شرایط بدون اکسیژن و یا کم اکسیژن، در دمای ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ درجه سلسیوس تولید می‌شود (Haider *et al*., 2015; Farooq *et al*., 2021).

بیوچار نقش مهمی در ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک مانند افزایش ظرفیت نگهداشت آب، افزایش ذخیره کربنی، افزایش pH، ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت بافری، بهبود ساختمان خاک، افزایش زیست‌توده میکروبی و فراهمی عناصر غذایی و بهبود حاصلخیزی خاک دارد (Warnock *et al*., 2007; Durukan *et al*., 2020). همچنین نقش مثبت بیوچار در کاهش اثرهای مخرب تنش‌ها در گیاهان مختلف گزارش‌شده است. در همین زمینه، گزارش‌شده که کاربرد بیوچار صفات ریخت‌شناسی، زیست‌توده، مقدار نورساخت، انباشت رنگ‌دانه‌های نورساختی و جذب مواد غذایی را تحت تنش خشکی در گیاهان گوجه‌فرنگی[۱] و داوودی[۲] افزایش داده است (Akhtar *et al*., 2014; Ali *et al*., 2017). کاربرد ۱۰٪ وزنی بیوچار پوسته برنج در محیط کشت چاوی چندساله[۳] سبب بهبود شاخص‌های رشدی، افزایش مقدار آهن و منیزیم و انباشت سبزینه برگ در شرایط تنش خشکی شد (Safari *et al*., 2023). کاربرد بیوچار در محیط کشت منجر به انباشت رنگ‌دانه‌های سبزینه، افزایش ظرفیت نورساختی و بهبود ظرفیت نگهداشت آب و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در آرابیدوپسیس[۴] شده است (Rao & Chaitanya, 2016).

جعفری آفریقایی[۵] گیاهی زینتی- دارویی یک‌ساله از تیره میناسانان[۶] می‌باشد که به دلیل گوناگونی رنگ، مدت‌زمان کوتاه تولید نشاء، آسانی نشاءکاری و دوره گلدهی طولانی، مناسب برای کشت در فضای سبز بیشتر نقاط دنیا می‌باشد (Nazari *et al*., 2007). با توجه به قرارگیری کشور ما در کمربند خشکی و کمبود منابع آب، این گیاه در طول دوره رشد با شرایط خشکی مواجه می‌شود که رشد، گلدهی و کیفیت آن را در فضای سبز با مشکل روبه‌رو می‌کند. ازاین‌رو استفاده از روش‌های کم‌هزینه برای کاهش اثرهای مخرب خشکی و بهره‌وری بهینه آب، جلوگیری از کاهش کیفیت گیاهان در فضای سبز و نیز پیروی از رویکرد خشک منظری[۷] الزامی می‌باشد. در همین راستا، هدف این پژوهش بررسی ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیک و نیز بیوشیمیایی جعفری آفریقایی در شرایط تنش خشکی و نقش بیوچار برای کاهش اثرهای مخرب خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح و محل انجام پژوهش

برای ارزیابی نقش بیوچار بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی و نیز بیوشیمیایی گل جعفری آفریقایی در تنش خشکی پژوهشی گلخانه‌ای در بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو عامل تیمار

۱- *Lycopersicon esculentum* ۲- *Chrysanthemum coronarium* ۳- *Lolium perenne* ۴- *Arabidopsis thaliana*
۵- *Tagetes erecta* L. ۶- Asteraceae ۷- Xeriscaping

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

آبیاری در سه سطح ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه و کاربرد بیوچار در سه سطح صفر، ۳/۵ و ۷٪ وزنی در قالب طرح کامل تصادفی با ۵ تکرار (گلدان) انجام گرفت.

آماده‌سازی و تهیه بیوچار

پوسته‌های برنج تهیه‌شده از شالیزارهای استان ایلام به آزمایشگاه منتقل و پس از شستشو به مدت ۳ ساعت در مجاورت هوا خشک شدند. پوسته‌های برنج در ظروف مکعبی فلزی درپوش‌دار به ابعاد ۶۰×۳۰×۲۰ سانتی‌متری ریخته شدند و درب آن به‌خوبی بسته شد. سپس بیوچار آن‌ها به مدت ۸ ساعت در دمای ۴۵۰ درجه سلسیوس طی فرآیند تجزیه حرارتی در کوره الکتریکی در شرایط اکسیژن محدود آماده شد (Yuan *et al.*, 2011) (شکل ۱).

شکل ۱- تبدیل پوسته برنج به بیوچار در دمای ۴۵۰ درجه سلسیوس.

Figure 1. Conversion of rice husk to biochar at 450 C°.

آماده‌سازی گلدان‌ها و کشت گیاهان

بذر F1 گل جعفری آفریقایی[۱] از شرکت PanAmerican Seed تهیه شد. برای تهیه نشاء، تعداد ۲ عدد بذر در سینی‌های کشت پرشده با محیط کشت تهیه‌شده از خاک زراعی، ماسه و کود حیوانی با نسبت حجمی ۱:۱:۱ کاشته شد. سینی‌های کشت به‌مدت ۱۲ روز در شرایط کنترل‌شده گلخانه (میانگین دمای روزانه و شبانه ۲۵ و ۱۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۰٪ و طول روز ۱۴ ساعت) نگهداری شدند و پس از رسیدن گیاهان به مرحله ۳ برگی به گلدان‌ها منتقل شدند. گلدان‌ها با ۳ کیلوگرم خاک زراعی و نسبت‌های وزنی ۳/۵ و ۷٪ بیوچار پر شدند. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و بیوچار در جدول ۱ آمده است. پس از گذشت دو هفته از استقرار نشاءها، تیمار خشکی آغاز شد.

روش کاربرد تیمارهای خشکی

مقدار آب موردنیاز برای رسیدن گلدان‌ها به ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه براساس ظرفیت مزرعه آمیخته خاکی محاسبه شد. به‌طوری‌که مقدار ۸۴۰، ۴۲۰ و ۲۱۰ میلی‌لیتر آب به ترتیب برای رسیدن رطوبت گلدان‌ها به ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه

۱- *Tagetes erecta* L. cv. Taishan Yellow

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

موردنیاز بود. برای اعمال تیمار خشکی، با وزن کردن روزانه گلدان‌ها، مقدار آب ازدست‌رفته محاسبه و به گلدان‌ها اضافه شد. پس از گذشت ۳ ماه، گیاهان برای انجام آزمایش‌های مورفو- فیزیولوژیک و بیوشیمیایی برداشت و به آزمایشگاه منتقل شدند.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکو-شیمیایی خاک، بیوچار و محیط‌های کشت استفاده‌شده در این پژوهش.

Table 1- Physico-chemical properties of soil, biochar and culture media used in this experiment.

ویژگی‌های فیزیکی خاک

Physical characteristics of soil

شن (٪) Sand (%)	سیلت (٪) Silt (%)	رس (٪) Clay (%)	بافت خاک Soil texture	ظرفیت مزرعه (٪) Field capacity (%)	نقطه پژمردگی دائم (٪) Permanent wilting point (%)
37.83	25.53	36.63	لومی رسی Clay loam	26	15

ویژگی‌های فیزیکو-شیمیایی بیوچار خالص پوسته برنج

Physico-chemical properties of pure rice husk biochar

جرم مخصوص حقیقی Particle density (g cm^{-3})	جرم مخصوص ظاهری Bulk density (g cm^{-3})	تخلخل کل Total porosity (%)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (µS cm^{-1})	ظرفیت تبادل کاتیونی Cation exchange capacity (meq 100 g^{-1})	ماده آلی Organic matter (%)
1.54	0.39	0.75	7.90	863	8.31	57.74

ویژگی‌های فیزیکو-شیمیایی خاک به‌تنهایی و در ترکیب با بیوچار

Physico-chemical characteristics of soil alone and in mixture with biochar

جرم مخصوص حقیقی Particle density (g cm^{-3})	جرم مخصوص ظاهری Bulk density (g cm^{-3})	تخلخل کل Total porosity (%)	pH	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (µS cm^{-1})	ظرفیت تبادل کاتیونی Cation exchange capacity (meq 100 g^{-1})	ماده آلی Organic carbon (%)	محیط کشت‌ها Growth media
2.20	1.43	0.45	7.82	205	12.98	0.64	خاک (Soil)
1.94	1.26	0.46	7.97	266	13.48	0.81	خاک+بیوچار ۳/۵٪ Soil+3.5% Biochar
1.75	1.07	0.49	8.09	341	14.09	0.90	خاک+بیوچار ۷٪ Soil+7% Biochar

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

اندازه‌گیری‌ها

شاخص‌های ریخت‌شناسی

پس از گلدهی و باز شدن کامل هر گل، گل‌ها قطع شدند و با استفاده از کولیس دیجیتالی طول و قطر آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از خشک‌کردن گل‌ها در آون (Memert 854, Germany) در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت، وزن خشک گل‌ها با ترازو دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ (AND Japan FX400) تعیین شد. برای سنجش طول دوره گلدهی، تعداد روزها پس از ظاهر شدن اولین گل تا پایان گلدهی شمارش شد. پس از پایان گلدهی، فراسنجه‌های دیگری مانند ارتفاع گیاه، قطر ساقه، وزن خشک شاخساره، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد گل و تعداد برگ‌ها اندازه‌گیری شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

محتوای نسبی آب برگ از روش Galmes et al. (2007) به‌دست‌آمد. نخست برگ‌ها به قطعه‌های ۱ سانتی‌متر مربعی تکه‌تکه شد که وزن‌تر آن‌ها حدود ۰/۵ گرم بود. تکه‌های وزن شده برگ، در پتری دیش‌های دربدار حاوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از خارج کردن تکه‌های برگ از آب مقطر وزن آن‌ها در حالت آماس اندازه‌گیری شد. پس‌ازآن وزن خشک تکه‌های برگ پس از گذشت ۴۸ ساعت درون آون در دمای ۷۰ درجه تعیین گردید. درپایان، محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر برحسب درصد محاسبه شد.

محتوای آب نسبی = [(وزن خشک- وزن آماس) / (وزن خشک- وزن تر)] × ۱۰۰

شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای (MSI)

برای اندازه‌گیری شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای از روش Sairam et al. (1997) استفاده شد. براساس این روش ابتدا ۰/۱ گرم نمونه برگ در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون فالکون ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس فالکون‌ها به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و پس از خنک شدن و هم‌دمایی با دمای اتاق، هدایت الکتریکی آن با کمک دستگاه هدایت‌سنج خوانده شد (C_1). دوباره فالکن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه درون حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی آن‌ها خوانده شد (C_2). سپس براساس فرمول زیر، شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای برحسب درصد محاسبه شد.

$$MSI = (1 - C_1 / C_2) \times 100$$

C_1= هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۴۰ درجه سلسیوس

C_2= هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس

مقدار سبزینه و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری مقدار سبزینه و کاروتنوئید از روش Litchenthaler and Buschmann (2001) استفاده شد. ۰/۲ گرم نمونه برگی در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ و ۰/۰۱ گرم اکسید منیزیم به‌خوبی سائیده شد، سپس به‌مدت۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hettich, Germany) شدند. رو شناورها جمع‌آوری شدند و مقدار جذب آن‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico UV-2100, USA) خوانده شدند. سپس با

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

رابطه‌های زیر مقدار سبزینهa، سبزینهb و سبزینه کل و مقدار کاروتنوئیدها محاسبه شد. مقدار کاروتنوئید، سبزینه a، b و کل برحسب میلی‌گرم در گرم بود (A663، A645 و A470 به‌ترتیب اعداد خوانده‌شده در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ می‌باشند).

$Chl_a = (12.25 \times A663 - 2.79 \times A645)$
$Chl_b = (21.21 \times A645 - 5.1 \times A663)$
$Ch_{Total} = Chla + Chl_b$
$Car = (1000_{Total} \times A470 - 1.8 \times Chl_a - 85.02 \times Chl_b) /198$

مقدار پرولین

برای اندازه‌گیری مقدار پرولین براساس روش Bates et al. (1973)، ابتدا ۰/۲ گرم برگ در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ ساییده شد. مخلوط همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از روشناور را به لوله‌های درب دار منتقل کرده و به تمام نمونه‌ها مقدار ۱ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر استیک‌اسید گلاسیال اضافه شد. فالکون حاوی این مواد در بن ماری ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت قرار داده شدند. پس از سرد کردن فالکون‌ها در تشت یخ و هم‌دما شدن محلول با دمای محیط، ۲ میلی‌لیتر تولوئن به هرکدام از لوله‌ها اضافه شد و سپس فالکون‌ها به مدت ۱۵ تا ۳۰ ثانیه ورتکس شدند. پس از دو فاز شدن محلول، فاز رویی را برداشته و جذب آن در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده منحنی استاندارد تعیین شد. برای رسم منحنی استاندارد پرولین از غلظت‌های صفر، ۲،، ۵، ۱۰، ۳۰ و ۶۰ میکرو مولار ال پرولین، تولوئن به‌عنوان بلانک (سطح صفر) و سرم آلبومین گاوی (BSA) استفاده شد. برای محاسبه میزان پرولین از رابطه زیر استفاده گردید:

پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)=(T × ppm) / (۱۰۰۰× W)

T = حجم مخلوط درون لوله‌آزمایش

W = وزن نمونه برگی مورداستفاده

مقدار کربوهیدرات‌های محلول کل

از روش Irigoyen *et al.* (1992) برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول کل استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت برگ توزین و در هاون چینی با ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ ساییده شد. عصاره رویی در فالکون ریخته و باقی‌مانده برگی در هاون دوباره با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ ساییده شد. مجموع عصاره حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با ۳۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از روشناور (عصاره) در لوله‌آزمایش ریخته و ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن اضافه شد. لوله‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد تا ماده رنگی حاصل شود. پس از خنک شدن لوله‌ها، مقدار جذب آن‌ها در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت کربوهیدرات‌های محلول برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

پروتئین‌های محلول کل

برای تعیین مقدار پروتئین‌های محلول کل، ۰/۵ گرم از برگ در هاون چینی قرارگرفته و۵۰ میلی‌گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP) به آن اضافه گردید. در حین هم زدن، ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH= ۷) حاوی سدیم متا بای سولفیت (۰/۰۱۹۰۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر) به آن اضافه شد و عمل ساییدن تا مرحله‌ی هموژنیزه شدن ادامه یافت. ترکیب حاصله به‌مدت ۲۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از فاز رویی که حاوی پروتئین‌های محلول کل بود با ۱۷۵ میکرولیتر گلیسرول ۵۰٪ مخلوط شد و جهت اندازه‌گیری‌های بعدی در فریزر ۷۰- نگهداری شد. ۴۰ میکرولیتر عصاره استخراج‌شده را به همراه ۹۶۰ میکرولیتر محلول برادفورد مخلوط نموده و پس از ۵ دقیقه، مقدار جذب نوری محلول در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Bradford, 1976).

محتوای پراکسید هیدروژن

برای اندازه‌گیری مقدار پراکسیدهیدروژن از روش Alexieva *et al.* (2001) استفاده شد. براساس این روش، عصاره حاصل از همگن‌سازی ۰/۳ گرم برگ و ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۵٪ به مدت ۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (pH = ۷) ۱۰۰ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر یدید پتاسیم یک مولار مخلوط و جذب آن در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار پراکسیدهیدروژن برحسب میکرومول بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

محتوای مالون دی آلدئید (MDA)

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید براساس روش Lee (2000) انجام شد. ۰/۲ گرم از نمونه برگ را با ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۵٪ در هاون چینی سائیده و به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس محلول حاصله به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفیوژ شده با ۳۰۰ میکرو لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶٪ مخلوط شد. در مرحله بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از خارج نمودن نمونه‌ها از حمام آب گرم، بی‌درنگ در یخ سرد شدند. درنهایت جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول‌موج‌های ۴۵۰، ۵۳۲ و۶۰۰ نانومتر خوانده شد. محتوای مالون‌دی‌آلدئید برحسب نانومول در گرم وزن تر براساس فرمول زیر محاسبه شد.

$MDA= 6.45(A_{532}- A_{600}) -0.56\ A_{450}$

A_{532} = جذب قرائت‌شده با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر

A_{600} = جذب قرائت‌شده با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر

A_{450} = جذب قرائت‌شده با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۵۰ نانومتر

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

برای اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز، ابتدا مقدار ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) به

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

همراه ۴۰ میکرولیتر گلایکول ۱٪ و۴۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳٪ در داخل کووت در بستر یخ باهم ترکیب شده و بی‌درنگ ۶۵ میکرولیتر عصاره پروتئینی از پیش استخراج‌شده از برگ، حاوی آنزیم‌های گیاهی به آن اضافه گردید. تغییرات جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در مدت ۱۲۰ ثانیه قرائت و درنهایت فعالیت POD برحسب واحد در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Hemeda & Kelin, 1990).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD با استفاده از روش Beyer & Fridovich (1987) انجام گرفت. اساس اندازه‌گیری آنزیم در این روش بازدارندگی آنزیم SOD از احیاء نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) می‌باشد. بر اساس این روش، محلول واکنش با ترکیب ۲۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار pH= ۷/۸، ۳/۵ میلی‌گرم ال-متیونین، ۴ میلی‌گرم NBT، ۷/۵ میکرولیتر Triton X-100 تهیه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول واکنش با ۴۰۰ میکرولیتر ریبوفلاوین (۴/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) و ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره‌ی پروتئینی استخراجی ترکیب و در میکروتیوب ریخته شدند. سپس جذب در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و درپایان مقدار فعالیت آنزیم SOD برحسب واحد در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

واکاوی آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ واکاوی و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر بیوچار بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی زیر تنش خشکی

نتایج نشان داد که کاهش سطح آبیاری، به‌طور معنی‌داری سبب کاهش شاخص‌های تعداد برگ، وزن خشک شاخساره، ارتفاع گیاه و تعداد شاخه‌های جانبی شد به‌طوری‌که کمترین مقدار آن‌ها در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه دیده شد (شکل ۲). با توجه به نتایج، مقدار قطر ساقه از ۱۰۰ تا ۵۰٪ ظرفیت مزرعه افزایش نشان داد و سپس در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه مقدار آن کاهش یافت (شکل ۲). یکی از اولین نشانه‌های تنش خشکی، کاهش فشار تورژسانس و درنتیجه کاهش رشد و نمو یاخته به‌ویژه در ساقه و برگ‌ها است. بزرگ شدن یاخته، به فشار آماس یاخته‌ای بالاتر از یک آستانه بحرانی به‌گونه‌ای که دیواره یاخته‌ای قابل‌گسترش باشد، وابسته است (Rahdari *et al*., 2012). بنابراین در زمان خشکی، زمانی که پتانسیل‌های آب کم باشد، بزرگ شدن یاخته محدود شده و رشد می‌تواند به مقدار زیاد کاهش یابد. با کاهش رشد یاخته، اندازه اندام محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبی روی گیاهان را می‌توان از اندازه کوچک‌تر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد. به دنبال کاهش سطح برگ، جذب نور کم شده و ظرفیت کل نورساختی گیاه کاهش می‌یابد و بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های نورساختی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و سرانجام عملکرد آن کاهش می‌یابد (Lobato *et al*., 2008).

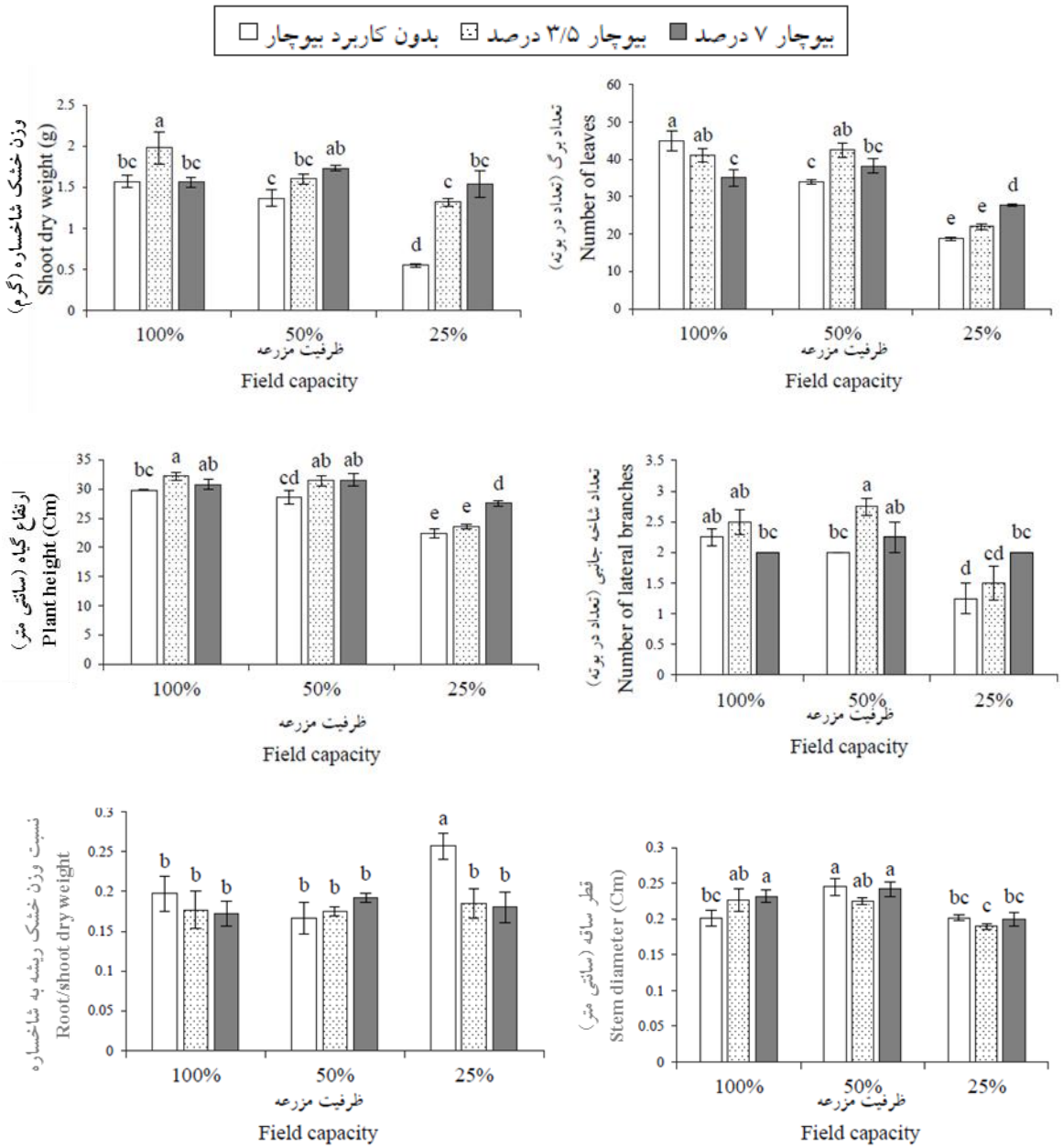
[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

کاهش شاخص‌های رشدی در آفتابگردان زینتی[۱]، شب‌بو[۲] و همیشه‌بهار[۳] در شرایط خشکی گزارش‌شده‌است (Toscano *et al.*, 2017; Jafari *et al.*, 2019; Soroori *et al.*, 2021). همچنین، نتایج این پژوهش نشان داد که نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره با کاهش سطح آبیاری افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه مشاهده شد (شکل ۲). دلیل این امر می‌تواند تخصیص بیشتر مواد نورساختی برای عمیق‌تر شدن ریشه‌ها نسبت به شاخساره در شرایط خشکی باشد (Chaves & Oliveria, 2004) که گیاهان با این شیوه دسترسی ریشه به آب را افزایش داده و به‌نوعی سازوکار اجتناب از تنش می‌باشد (Samarah *et al.*, 2004). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از بیوچار به‌طور معنی‌داری ویژگی‌های تعداد برگ، وزن خشک شاخساره و ارتفاع گیاه را در سطوح خشکی ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه افزایش داد (شکل ۲). کاربرد تیمار بیوچار اثر معنی‌داری بر قطر ساقه در سطوح خشکی ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه نداشت (شکل ۲). کاربرد بیوچار در ۱۰۰٪ ظرفیت مزرعه اختلاف معنی‌داری بر تعداد شاخه جانبی نداشت، درصورتی‌که بیشترین تعداد شاخه جانبی در ۵۰٪ ظرفیت مزرعه در تیمار ۳/۵٪ بیوچار و در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه در تیمار ۷٪ بیوچار مشاهده شد (شکل ۲). در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰٪ ظرفیت مزرعه، کاربرد بیوچار اختلاف معنی‌داری بر نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره نداشت (شکل ۲)، درحالی‌که کاربرد بیوچار در سطح خشکی ۲۵٪ ظرفیت مزرعه، منجر به کاهش نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره شد (شکل ۲). افزایش جذب مواد مغذی، بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (جدول ۱)، تقویت میکروارگانیسم‌های مفید خاک، کمک به ساخت هورمون‌های گیاهی و بهبود ظرفیت نگهداری آب در خاک از دلایل نقش مثبت بیوچار در بهبود شاخص‌های رشدی گیاه در شرایط خشکی بیان‌شده‌است (Major *et al.*, 2010; Mehari *et al.*, 2015).

در همین راستا، کاربرد بیوچار ویژگی‌های ریخت‌شناسی نارنج سه برگ[۴] را با افزایش رشد ریشه و بهبود ویژگی‌های خاک مانند pH و حاصلخیزی، افزایش داد (Changxun *et al.*, 2016). کاربرد ۱۰٪ وزنی بیوچار به‌طور معنی‌داری حاصلخیزی خاک، رشد گیاه و عملکرد را در ماش[۵] افزایش داد (Prapagdee & Tawinteung, 2017). اثرهای مثبت بیوچار بر افزایش وزن تر دانهال سیب زینتی[۶] گزارش‌شده است (Wang *et al.*, 2014). همچنین در یک آزمایش گلخانه‌ای، بیوچارِ کاه و کلش گندم، وزن خشک و تر گیاه ریحان[۷] را با انباشت مواد آلی خاک افزایش داد (Zahedifar & Najafian, 2017).

۱- *Helianthus annuus* L. ۲- *Matthiola incana* L. ۳- *Calendula officinalis* L. ۴- *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. ۵- *Vigna radiate* L. ۶- *Malus hupehensis* Rehd. ۷- *Ocimum basilicum* L.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بیوچار پوسته برنج و تنش خشکی بر وزن خشک شاخساره، تعداد برگ، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد شاخه جانبی و نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره در جعفری آفریقایی (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند و شاخص عمودی بالای ستون‌ها معرف خطای استاندارد است).

Figure 2. Mean comparison of the interaction effect of rice husk biochar and drought stress on shoot dry weight, number of leaves, plant height, stem diameter, number of lateral branches and ratio of root/shoot dry weight of African marigold (Data followed by the same letters, are not significantly different using the LSD test at 5% level and the vertical index above the columns represents a standard error).

اثر بیوچار بر شاخص‌های گلدهی زیر تنش خشکی

نتایج نشان داد که با کاهش سطح آبیاری از ۱۰۰ تا ۲۵٪ ظرفیت مزرعه تعداد گل، طول گل و قطر گل، به‌طور معنی‌داری

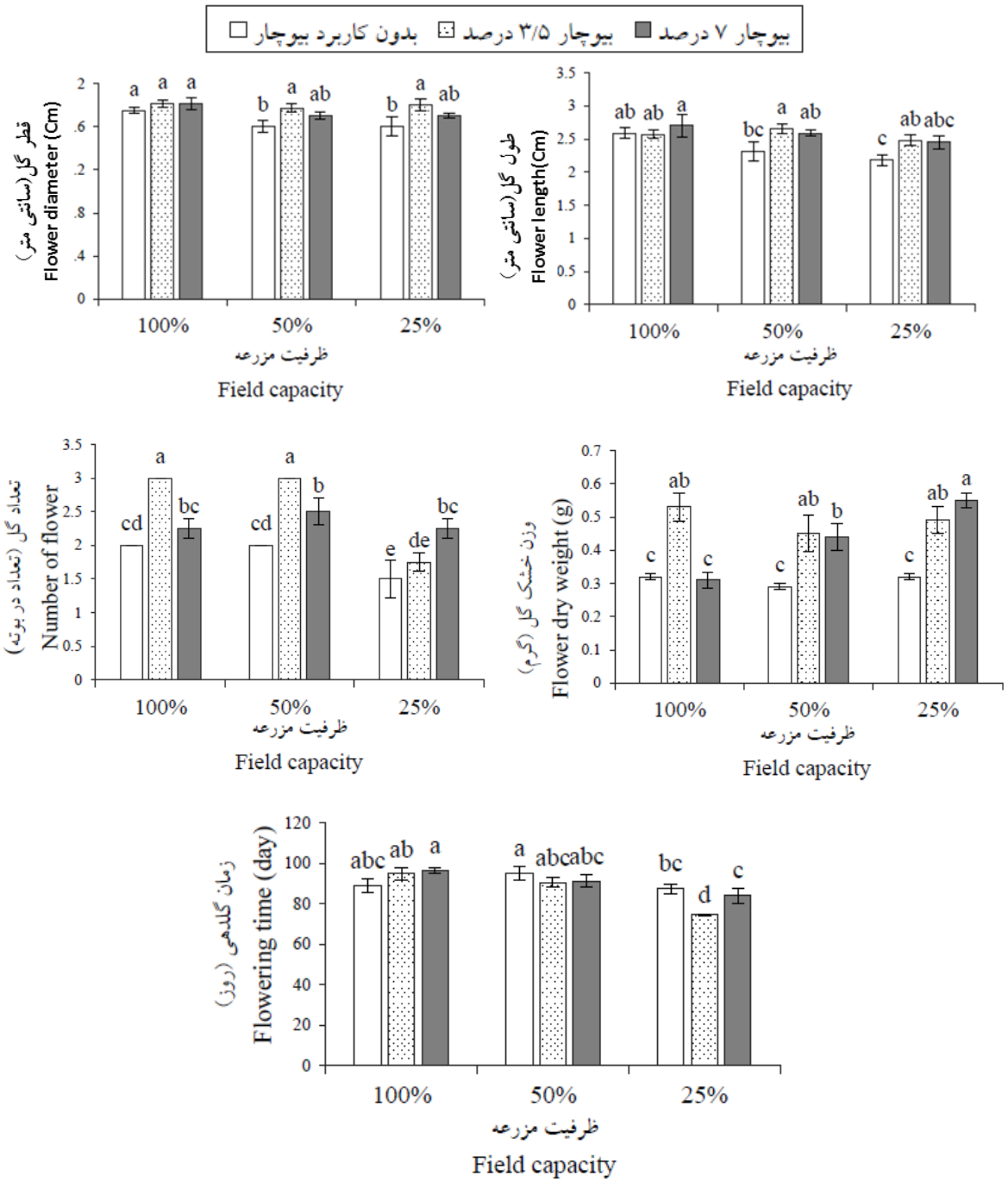
[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

کاهش یافت، به‌طوری‌که کمترین مقدار آن‌ها در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه مشاهده‌شد (شکل ۳). کاهش نورساخت، بسته‌شدن روزنه‌ها، دیواره یاخته‌ای ضخیم‌تر، برگ‌ها و ساقه‌های کوچک‌تر و افزایش مقدار کوتین ازجمله تغییراتی می‌باشد که هنگام خشکی رخ می‌دهد (Parida *et al*., 2008). بسته شدن روزنه در پاسخ به تنش خشکی در درجه اول منجر به کاهش مقدار نورساخت می‌شود. کاهش مقدار نورساخت موجب کاهش انتقال محصولات نورساختی به گل‌آذین جهت انجام تقسیم و تمایز یاخته‌ای برای تشکیل و تولید گل می‌گردد و درنهایت سبب کاهش عناصر زایشی گل می‌شود (Mahajan & Tuteja, 2005; Sankar *et al*., 2007).

در همین زمینه، کاهش تعداد و قطر گل نرگس[۱] در شرایط تنش خشکی گزارش‌شده است (Naseri Moghadam *et al*., 2020). تنش خشکی در گل مریم[۲] سبب کاهش طول ساقه گل دهنده و قطر گل شد (Salehi & Bahadoran, 2015). کاهش عملکرد گل زعفران[۳] در خشکی دیده شده است (Sepaskhah & Yarami, 2009). یکی دیگر از دلایل کاهش تعداد و عملکرد گل در تنش خشکی کاهش تعداد شاخه جانبی ذکرشده است (Amiri *et al*., 2010) همان‌طور که در پژوهش حاضر ما خشکی سبب کاهش تعداد شاخه‌های جانبی شد (شکل ۲). همچنین نتایج مطالعه ما نشان داد که کاهش سطوح آبیاری اختلاف معنی‌داری بر زمان گلدهی نداشت (شکل ۳). مشابه با نتایج پژوهش ما تنش خشکی ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه در گل اطلسی اثر معنی‌داری بر زمان گلدهی نشان نداد (Zadeh Bagheri *et al*., 2014). براساس نتایج به‌دست‌آمده استفاده از بیوچار به‌طور معنی‌داری سبب افزایش قطر گل، طول گل، تعداد گل و وزن خشک گل در هنگام کاهش سطوح آبیاری از ۱۰۰ به ۲۵٪ ظرفیت مزرعه گردید (شکل ۳). افزایش دسترسی ریشه به آب، بهبود ظرفیت نگهداری آب در خاک، افزایش انباشت عناصر غذایی کم و پرمصرف مانند نیترات، آمونیوم، فسفات، بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و میکروبی خاک و افزایش ماده آلی در خاک ازجمله فاکتورهایی می‌باشد که در رشد و گل‌دهی مؤثر می‌باشد (Ding *et al*., 2016; Semida *et al*., 2019). در همین راستا، مصرف ۴۰ گرم در کیلوگرم بیوچار به‌طور معنی‌داری میانگین قطر گل، وزن خشک گل، تعداد گل در گیاه همیشه‌بهار را افزایش داده است (Karimi *et al*., 2020). نسبت ۷۰ به ۳۰ حجمی بیوچار به پیت خزه در محیط کشت به‌طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد گل، تعداد گل‌آذین و وزن خشک گل‌آذین در گیاه شمعدانی[۴] شد (Conversa *et al*., 2015). افزایش وزن تر گل، تعداد گل، قطر گل، قطر ساقه گل‌دهنده در محیط کشت حاوی ۲٪ بیوچار و ۴۰ گرم قارچ میکوریز در گل نرگس گزارش شد (Khosravi *et al*., 2021).

۱- *Narcissus tazetta* L. ۲- *Polianthes tuberosa* L. ۳- *Crocus sativus* L. ۴- *Pelargonium zonale* L.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بیوچار پوسته برنج و تنش خشکی بر طول گل، قطر گل، وزن خشک گل، تعداد گل و زمان گلدهی در جعفری آفریقایی (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند و شاخص عمودی بالای ستون‌ها معرف خطای استاندارد است).

Figure 3. Mean comparison of the interaction effect of rice husk biochar and drought stress on length and diameter of flower, number of flowers, flower dry weight, and flowering time of African marigold (Data followed by the same letters, are not significantly different using the LSD test at 5% level and the vertical index above the columns represents a standard error).

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

اثر بیوچار بر محتوای نسبی آب برگ، مالوندی‌آلدئید و پایداری غشای یاخته‌ای زیر تنش خشکی

کاهش شاخص محتوای آب نسبی در شرایط خشکی یک رخداد مهم است و این شاخص توانمندی گیاه را در تقابل با خشکی نشان می‌دهد. محتوای آب نسبی نسبت مقدار آب گیاه در حالت تنش به مقدار آب گیاه در حالت آماس کامل را بیان می‌کند. محتوای آب نسبی شاخصی دقیق برای گزینش گیاهان مقاوم به شرایط خشکی می‌باشد (Molnár, 2002). کاهش محتوای آب نسبی و بسته‌شدن روزنه‌ها از نخستین اثرهای خشکی بوده که منجر به اختلال در ساخت مواد نورساختی و کاهش عمکرد می‌شود (Shekoofa *et al.*, 2014). نتایج پژوهش نشان داد کاهش سطوح آبیاری به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش محتوای نسبی آب در برگ‌ها شد و کمترین مقدار آن‌ها در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه به دست آمد (شکل ۴). در راستای نتایج ما، کاهش محتوای آب نسبی برگ در گیاهان جعفری مکزیکی[۱] و گل صدتومانی[۲] در شرایط خشکی گزارش‌شده است (Wang *et al.*, 2019; Babaei *et al.*, 2021).

کاربرد بیوچار سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ تحت تنش خشکی شد. به‌گونه‌ای که در ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه هر دو مقدار ۷ و ۳/۵ ٪ بیوچار، به‌طور معنی‌داری سبب افزایش محتوای نسبی آب در برگ‌ها شدند. بیشترین محتوای نسبی آب در تیمار ۷٪ بیوچار به‌دست‌آمد (شکل ۴). بهبود ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی خاک، افزایش ظرفیت نگهداری خاک از دلایل مهم نقش بیوچار جهت افزایش محتوای نسبی آب در شرایط خشکی بیان‌شده است (Akhtar *et al.*, 2014). در همین زمینه، کاربرد ۳٪ وزنی بیوچار سبب بهبود محتوای نسبی آب گیاه ذرت در تنش خشکی شد (Haider *et al.*, 2015). در شرایط تنش، تولید رادیکال‌های آزاد منجر به آسیب به ماکرومولکول‌هایی مانند آنزیم‌ها و لیپیدها می‌گردد (Erdogan *et al.*, 2016). لیپیدها در غشای یاخته‌ای اولین هدف رادیکال‌های آزاد هستند که پراکسیداسیون لیپیدها منجر به تولید مالوندی‌آلدئید که یک نشانگر زیستی در تنش‌های محیطی است و سطح‌های زیاد آن نشان‌دهنده ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد (Patel & Hemantaranjan, 2012). همان‌طور که در پژوهش حاضر مشخص شد تنش خشکی منجر به انباشت مالوندی‌آلدئید گردید که نشان می‌دهد یاخته‌های گیاه در شرایط کاهش آبیاری دچار پراکسیداسیون لیپیدها و تنش اکسیداتیو شده‌اند (شکل ۴).

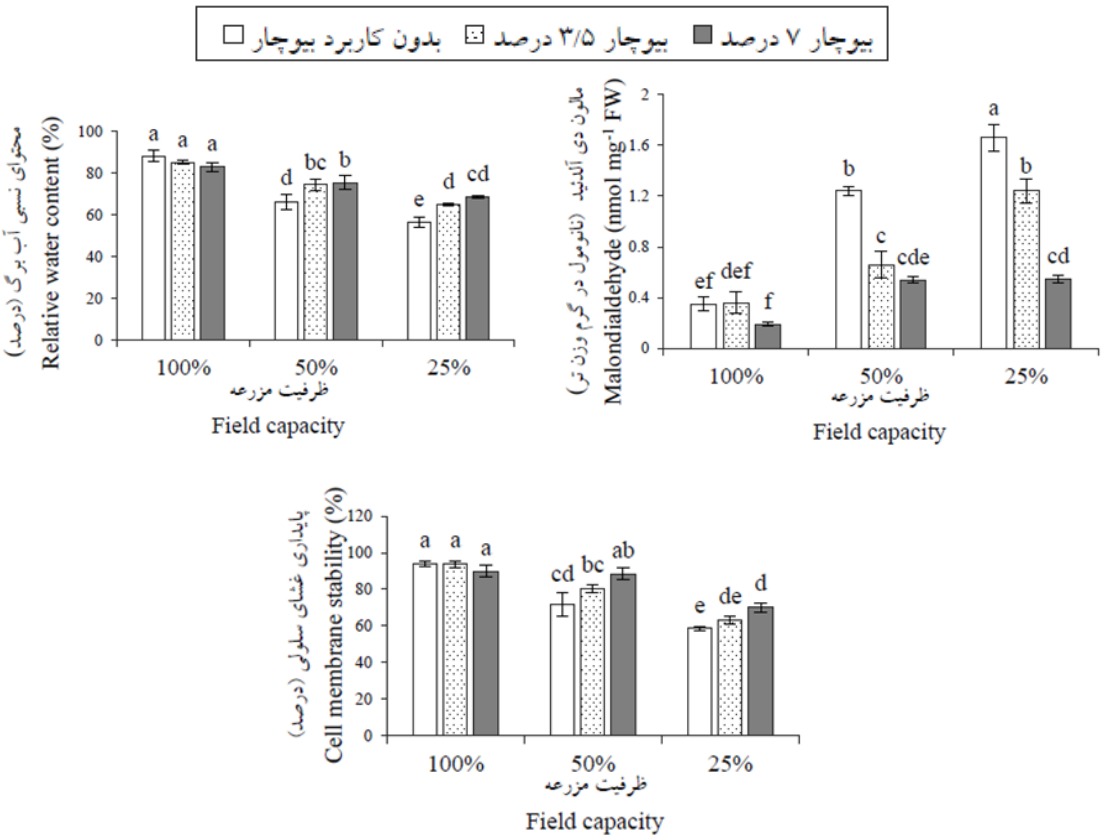
یافته‌ها نشان داد که کاربرد بیوچار به‌طور معنی‌داری انباشت مالوندی‌آلدئید در هنگام کاهش سطوح آبیاری از ۱۰۰ به ۲۵٪ ظرفیت مزرعه را در گیاه کاهش داد (شکل ۴). این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد بیوچار توانسته مقدار پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش دهد و از تخریب لیپیدها جلوگیری کند. همسو با نتایج ما، کاهش انباشت مالوندی‌آلدئید در محیط کشت چمن لولیوم تیمار شده با بیوچار در تنش خشکی گزارش‌شده است (Safari *et al.*, 2023). انباشت رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش محیطی سبب خسارت به ماکرومولکول‌های حیاتی، غشاها و اندامک‌های یاخته‌ای می‌شوند که منجر به افزایش نشت الکترولیت‌ها می‌گردد و درپایان ساختار و یکپارچگی غشا را از بین می‌برد و سبب کاهش پایداری غشا می‌شود (Saneoka *et al.*, 2004). نتایج حاضر کاهش شاخص پایداری غشای یاخته‌ای را با کاهش سطوح آبیاری نشان داد به‌طوری که کمترین شاخص پایداری غشای یاخته‌ای در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه دیده شد (شکل ۴). همچنین نتایج نشان داد که استفاده از ۳/۵ و ۷٪ بیوچار منجر به افزایش پایداری غشا در شرایط خشکی شده است و تیمار ۷٪ بیوچار نسبت به ۳/۵٪ برای افزایش پایداری

۱- *Tagetes minuta* L.

۲- *Paeonia lactiflora* Pallas.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

غشا مؤثرتر بوده است (شکل ۴). ساختار متخلخل بیوچار که سبب افزایش ظرفیت نگهداری بالای آب می‌شود، از دلایل بهبود پایداری غشای یاخته‌ای در تنش خشکی نام برده شده است (Basso *et al.*, 2013).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بیوچار پوسته برنج و تنش خشکی بر محتوای نسبی آب برگ، مالوندی‌آلدئید و پایداری غشای یاخته‌ای در جعفری آفریقایی (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند و شاخص عمودی بالای ستون‌ها معرف خطای استاندارد است).

Figure 4. Mean comparison of the interaction effect of rice husk biochar and drought stress on cell membrane stability index, malondialdehyde, and leaf relative water content of African marigold (Data followed by the same letters, are not significantly different using the LSD test at 5% level and the vertical index above the columns represents a standard error).

اثر بیوچار بر محتوای پرولین و کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های محلول کل زیر تنش خشکی

در شرایط خشکی، تنظیم اسمزی یک مکانیسم مقاومتی جهت حفظ روابط آبی گیاه است که با انباشت یون‌ها و یا مواد محلول با وزن مولکولی کم مانند اسیدهای آمینه، پتاسیم، کلسیم، قندها، اسیدهای آلی و همچنین پرولین و کربوهیدرات‌ها انجام می‌شود. در این شرایط گیاه برای استمرار جذب آب اقدام به انباشت این ترکیبات می‌کند تا بتواند پتاسیل اسمزی خود را جهت جذب بیشتر آب کاهش دهد و به فعالیت‌های حیاتی خود ادامه بدهد (Hasegawa *et al.*, 2000; Fattahi *et al.*, 2016). نتایج ما انباشت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول را با کاهش سطوح آبیاری نشان داد و بیشترین انباشت آن‌ها در

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

۲۵٪ ظرفیت مزرعه مشاهده شد (شکل ۵). در پژوهش ما به نظر می‌رسد که گیاه با انباشت پرولین و کربوهیدرات‌ها به‌عنوان مکانیسمی جهت کاهش اثرهای مخرب خشکی اقدام نموده است. همسو با نتایج ما انباشت پرولین و کربوهیدرات در شرایط خشکی در چمن لولیوم و همیشه‌بهار گزارش‌شده است (Metwally *et al*., 2013; Safari *et al*., 2023). کاربرد تیمار بیوچار سبب کاهش محتوای پرولین و افزایش کربوهیدرات‌های محلول در شرایط بدون تنش شد (شکل ۵). تیمارهای ۳/۵ و ۷٪ بیوچار به‌طور معنی‌داری سبب کاهش محتوای پرولین در سطوح خشکی ۵۰ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه گردید (شکل ۵). اثر تیمار بیوچار بر محتوای کربوهیدرات‌های محلول در سطح خشکی ۵۰٪ ظرفیت مزرعه معنی‌داری نبود درحالی‌که در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه، تیمار بیوچار موجب کاهش معنی‌دار کربوهیدرات‌های محلول شد (شکل ۵). از دلایل کاهش محتوای پرولین در هنگام کاربرد بیوچار در محیط کشت در تنش خشکی افزایش دسترسی ریشه به آب، بهبود تخلخل خاک و افزایش دسترسی به مواد مغذی گیاه ذکرشده است. به نظر می‌رسد که استفاده از بیوچار منجر به کاهش شدت تنش شده است و درنتیجه در محتوای پرولین افزایشی مشاهده نمی‌شود (Hafeez *et al*., 2017). همچنین در این مطالعه می‌توان کاهش کربوهیدرات‌های محلول کل با کاربرد بیوچار را به بهبود شرایط رشدی گیاه جعفری آفریقایی نسبت داد که موجب کاهش شدت تنش و درنتیجه کاهش کربوهیدرات گردیده است (Safari *et al*., 2023).

نتایج پژوهش ما نشان داد که کاهش سطوح آبیاری منجر به کاهش انباشت پروتئین‌های محلول می‌گردد (شکل ۵). همچنین تیمار بیوچار در ظرفیت رطوبتی ۱۰۰ و ۵۰٪ مزرعه مقدار پروتئین را کاهش داد. اما در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه تیمار ۷٪ بیوچار سبب افزایش مقدار پروتئین شد (شکل ۵). کاهش محتوای پروتئین‌های محلول در تنش خشکی با کاهش ساخت و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین مرتبط می‌باشد. این کاهش مقدار پروتئین‌های محلول را می‌توان به کاهش پیش‌ماده‌های تولیدکننده پروتئین، کاهش تعداد پلی‌زوم‌های اتصالی به غشا، کاهش سطوح mRNA، تخریب یا غیرفعال شدن ریبوزوم‌ها، کاهش بیان ژن‌های کد کننده پروتئازهای درون‌یاخته‌ای نسبت داد (Setayesh-Mehr & Ganjeali, 2013). همچنین افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در خشکی و اکسیداسیون پروتئین‌ها از دیگر دلایل کاهش پروتئین در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Yazdanpanah *et al*., 2011). علت افزایش پروتئین‌ها در هنگام کاربرد تیمار ۷٪ بیوچار در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه می‌تواند به دلیل ظرفیت بالای تبادل کاتیونی بیوچار، جلوگیری از آبشویی کاتیون و آنیون‌ها و حفظ مواد غذایی خاک جهت ساخت پروتئین‌ها دانست (Novak *et al*., 2009).

اثر بیوچار بر پراکسید هیدروژن و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان زیر تنش خشکی

نتایج نشان داد که کاهش سطوح آبیاری به‌طور معنی‌داری سبب افزایش مقدار پراکسید هیدروژن در برگ‌ها شد. به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه مشاهده شد (شکل ۶). خشکی اثرهای نامطلوب فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی را در گیاه ایجاد می‌کند که منجر به اختلال در فرآیندهای بیوشیمیایی مهمی مانند نورساخت، تنفس و آسیمیلاسیون عناصر غذایی می‌شود (Shan *et al*., 2016). در گیاهان براثر آسیب‌های متحمل شده در خشکی، تنش اکسیداتیو تحریک می‌شود که منجر به ساخت و انباشته شدن گونه‌های فعال اکسیژن همچون پراکسید هیدروژن در طول تنش می‌شود که این گونه‌های فعال اکسیژن قادر می‌باشند ترکیب‌های آلی یاخته‌ای همچون لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای‌نوکلئیک و پروتئین‌ها را تخریب کنند

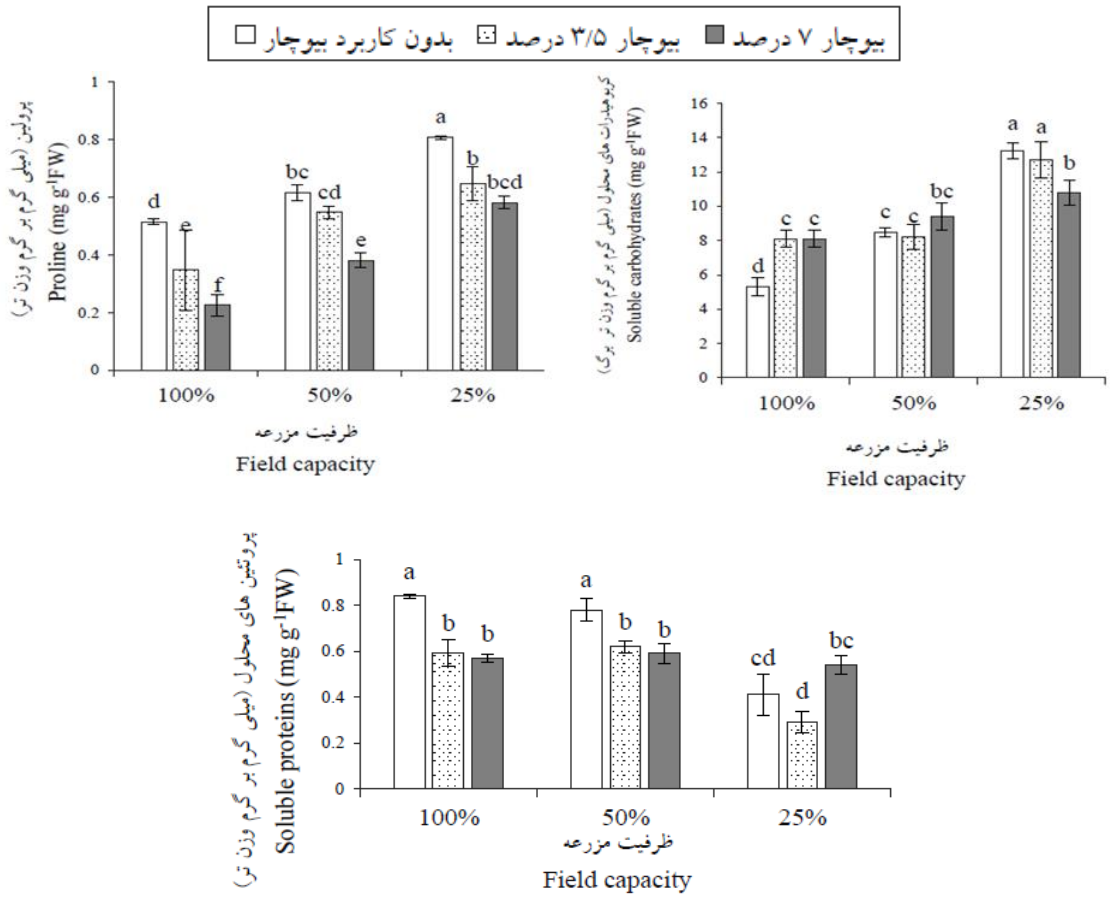
[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

(Smirnof, 1993). در پژوهش ما به نظر می‌رسد که انباشت پراکسیدهیدروژن نشان‌دهنده القا تنش اکسیداتیو در گیاه باشد. ازاین‌رو گیاهان برای تقابل با هجوم این رادیکال‌های آزاد دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از نوع آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشند (Cakmakci *et al*., 2016). در همین راستا، نتایج ما نشان داد که کاهش سطوح آبیاری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در گیاه شد (شکل ۶). به نظر می‌رسد انباشت این آنزیم‌ها پاسخی برای حذف رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیداتیو القاشده در خشکی باشد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی قادر می‌باشند که یاخته‌های گیاهی را در برابر طیف وسیعی از تنش‌های زنده و غیرزنده محافظت کنند و گونه‌های فعال اکسیژن حاصل از تنش‌ها را در طول واکنش‌های اکسیداسیون و احیا جاروب کنند و آن‌ها را به مولکول‌های آب و اکسیژن تبدیل نمایند (Gill & Tuteja, 2010). افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان پنبه، قهوه، لوبیا و آرابیدوپسیس در تنش خشکی گزارش‌شده است (Meloni *et al*., 2003; Jung, 2004; Cai *et al*., 2005; Zlatev *et al*., 2006). نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار در محیط کشت سبب کاهش انباشت پراکسیدهیدروژن و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تنش خشکی شد (شکل ۶). کاهش تبخیر آب، افزایش ظرفیت نگهداری آب و بهبود بافت خاک از نقش‌های مهم افزودن بیوچار به محیط کشت می‌باشد که بیان‌شده است منجر به کاهش رادیکال‌های آزاد مانند پراکسیدهیدروژن و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه در شرایط خشکی می‌گردد (Safahani & Noora, 2018). کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در محیط کشت تیمار شده با بیوچار در شرایط خشکی در گیاهان *Phragmites karka* (Retz.)، گلابی[۱] و کلزا[۲] گزارش‌شده است (Lyu *et al*., 2016; Abideen *et al*., 2020; Khan *et al*., 2021).

۱- *Pyrus ussuriensis* Maxim.

۲- *Brassica napus*

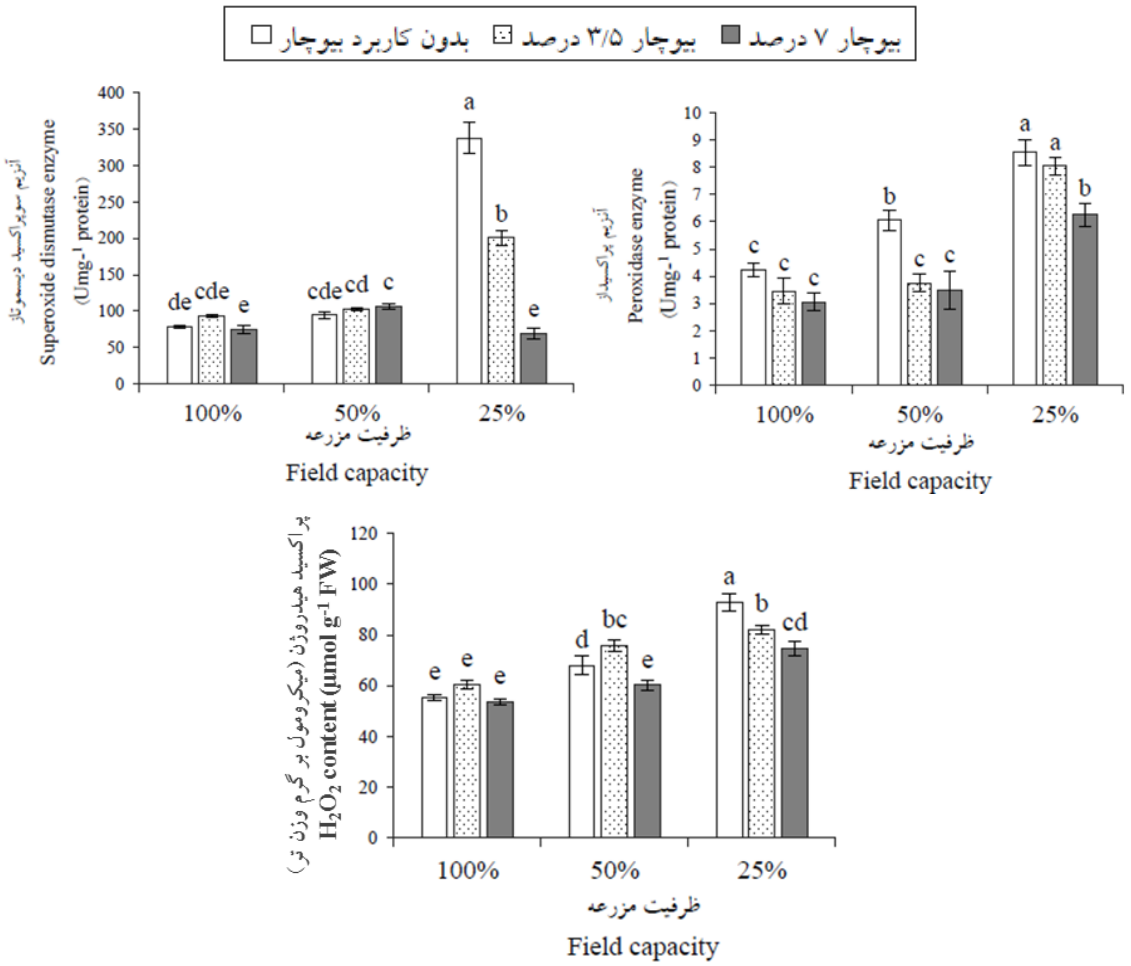
[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بیوچار پوسته برنج و تنش خشکی بر محتوای پرولین، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های محلول در جعفری آفریقایی (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند و شاخص عمودی بالای ستون‌ها معرف خطای استاندارد است).

Figure 5. Mean comparison of the interaction effect of rice husk biochar and drought stress on proline, soluble carbohydrates, and soluble proteins of African marigold (Data followed by the same letters, are not significantly different using the LSD test at 5% level and the vertical index above the columns represents a standard error).

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بیوچار پوسته برنج و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و محتوای پراکسیدهیدروژن در جعفری آفریقایی (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند و شاخص عمودی بالای ستون‌ها معرف خطای استاندارد است).

Figure 6. Mean comparison of the interaction effect of rice husk biochar and drought stress on the activity of peroxidase and superoxide dismutase enzymes and hydrogen peroxide content of African marigold (Data followed by the same letters, are not significantly different using the LSD test at 5% level and the vertical index above the columns represents a standard error).

اثر بیوچار بر محتوای رنگ‌دانه‌ها زیر تنش خشکی

نتایج نشان داد که کاهش سطوح آبیاری منجر به افزایش محتوای سبزینه a، سبزینه b و سبزینه کل برگ شد به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن‌ها در ۲۵٪ ظرفیت مزرعه به‌دست آمد (شکل ۷). در شرایط خشکی، فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم دچار اختلال می‌شوند. خشکی با اثر بر مقدار نورساخت گیاه و کاهش رنگ‌دانه‌های نورساختی مانند سبزینه سبب کاهش عملکرد می‌گردد. مقدار سبزینه در گیاهان یکی از شاخص‌های مهم برای حفظ ظرفیت نورساختی است (Nikolaeva *et al.*, 2010). دوام نورساخت و حفظ سبزینه در شرایط تنش‌ها ازجمله شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل به تنش می‌باشد. خشکی منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش سبزینه می‌گردد. در طول تنش، سبزینه‌ها در کلروپلاست

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

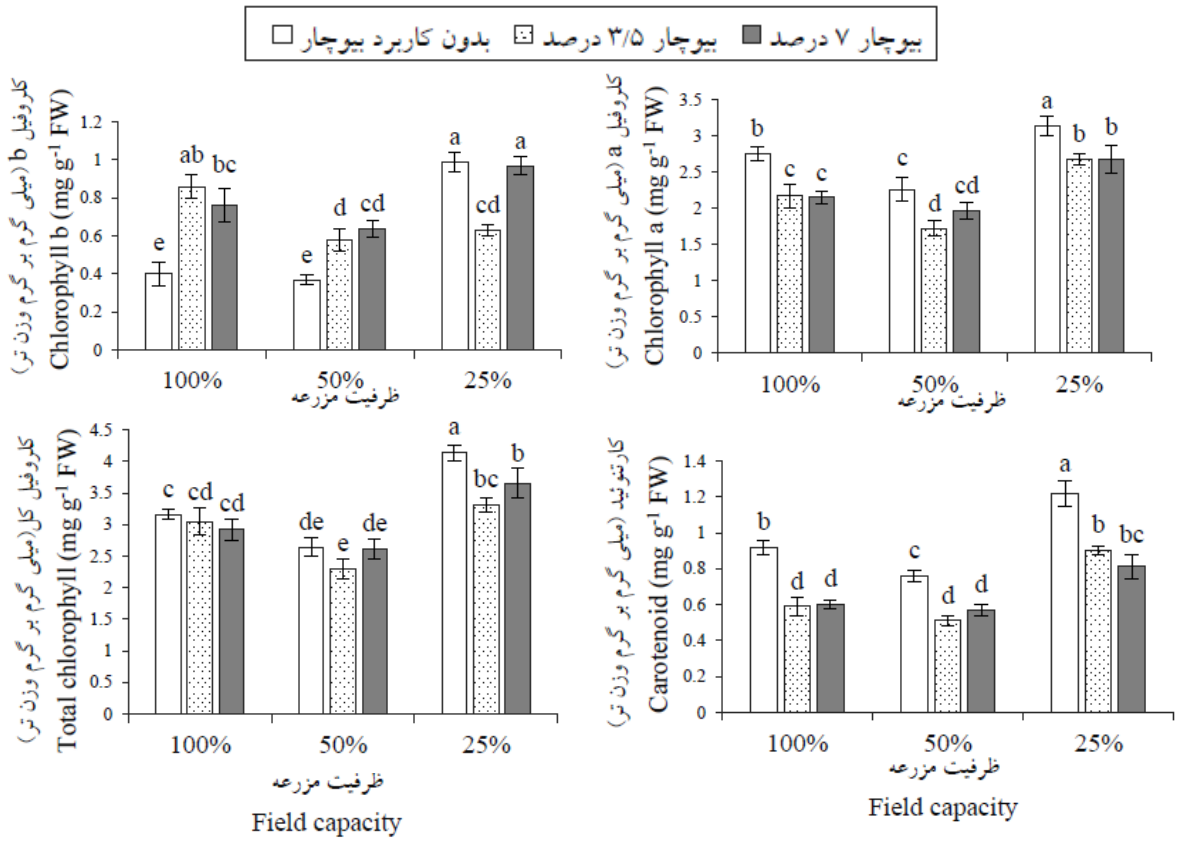
تخریب و ساختارهای تیلاکوئید ناپدید می‌شوند (Guseynova *et al*., 2006). از دلیل‌های کاهش سطح سبزینه در شرایط تنش می‌توان به بسته شدن روزنه‌ها و افزایش دمای برگ اشاره کرد. در این شرایط، دما منجر به تخریب کلروپلاست و کاهش سطح رنگدانه‌های سبزینه ای می‌شود (Liu *et al*., 2012). جلوگیری از ساخت و افزایش تجزیه رنگدانه‌های نورساختی و یا پیش‌سازهای آن‌ها یکی دیگر از علل کاهش رنگدانه‌های سبزینه ای در شرایط تنش است (Upadhyaya & Panda, 2004). کاهش مقدار سبزینه در شرایط خشکی در گیاهان رز، گل‌محمدی، انگور، انار و سیب گزارش‌شده است (Masojídek *et al*., 1991; Šircelj *et al*., 2005; Khattab *et al*., 2011; Abdel-Hameed *et al*., 2016). بیشتر پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تنش خشکی منجر به کاهش مقدار سبزینه می‌گردد درحالی‌که در پژوهش ما افزایش مقدار سبزینه مشاهده شد (شکل ۷). علت این امر می‌تواند مرتبط با نوع گیاه، مدت و شرایط تنش باشد. در همین راستا، Nikolaeva *et al*. (2010) افزایش محتوای سبزینه را در برگ‌های گیاه گندم در شرایط خشکی گزارش کردند. آن‌ها علت این موضوع را کوچک شدن یاخته‌های برگ به علت کوچک شدن سطح برگ و همچنین ضخیم شدن آن‌ها بیان کردند. همچنین Masojidek *et al*. (1991) علت افزایش مقدار سبزینه در خشکی را افزایش وزن مخصوص برگ می‌دانند. به این صورت که در تنش سطح برگ کاهش می‌یابد، اما اندازه یاخته‌ها در واحد وزن برگ افزایش می‌یابد. همچنین نتایج ما انباشت کاروتنوئید را در هنگام کاهش سطوح آبیاری نشان داد (شکل ۷). انباشت کاروتنوئید در شرایط خشکی در گونه‌های مختلف پنبه[۱] گزارش‌شده است (Naderi Arefi, 2020). با توجه به نتایج، کاربرد بیوچار شاخص‌های سبزینه ای و کاروتنوئید را در شرایط ۲۵٪ ظرفیت مزرعه کاهش داد (شکل ۷).

در پژوهش‌های پیشین دو دلیل برای کاهش مقدار سبزینه برگ با کاربرد بیوچار عنوان شده است: ۱- با توجه به مقدار بالای کربن بیوچار و بالا بودن نسبت C/N در آن، ریز جانداران برای تنظیم نسبت C/N=۲۴ و درنتیجه تأمین نیتروژن موردنیاز خود از ذخیره نیتروژن خاک استفاده می‌نمایند که این مسئله سبب کمبود موقت نیتروژن[۲] خاک می‌شود و درنهایت با کاهش جذب نیتروژن، ممکن است سبب کاهش مقدار سبزینه شده باشد (Lehmann *et al*., 2002) و ۲- از دلایل دیگر ممکن است با جذب NH_4^+ در سطح بیوچار مرتبط باشد که این موضوع سبب کاهش نیتروژن در دسترس برای گیاه می‌شود (Akhtar *et al*., 2014).

۱- *Gossypium* spp.

۲- Immobilization

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر برهمکنش بیوچار پوسته برنج و تنش خشکی بر محتوای سبزینه a، سبزینه b، سبزینه کل و کاروتنوئید در جعفری آفریقایی (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند و شاخص عمودی بالای ستون‌ها معرف خطای استاندارد است).

Figure 7. Mean comparison of the interaction effect of rice husk biochar and drought stress on chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid content of African marigold (Data followed by the same letters, are not significantly different using the LSD test at 5% level and the vertical index above the columns represents a standard error).

نتیجه‌گیری

کمبود منابع آب، کاهش نزولات جوی و گرم شدن کره زمین، خشکی را به مهم‌ترین چالش در بین تنش‌های زنده و غیرزنده تبدیل کرده است به‌طوری‌که هرساله پژوهش‌های فراوانی برای بررسی اثر خشکی و ارائه راهکارهایی جهت کاهش اثرهای مخرب خشکی بر گیاهان انجام می‌شود. استفاده از بیوچار به‌عنوان یکی از راهکارهای تعدیل‌کننده اثرهای مخرب خشکی در بسیاری از پژوهش‌ها بررسی و نقش مثبت آن ثابت‌شده‌است. با توجه به دسترسی آسان به این ماده و هزینه مقرون‌به‌صرفه‌ی آن، استفاده از آن در محیط‌های کشت قابل توصیه می‌باشد. به‌طورکلی نتایج ما نشان داد که خشکی سبب کاهش ویژگی‌های ریخت‌شناسی جعفری آفریقایی شد و استفاده از بیوچار در محیط کشت سبب بهبود این ویژگی‌های در شرایط تنش خشکی شد. انباشت مالون‌دی‌آلدئید، پراکسیدهیدروژن، کاهش محتوای نسبی آب و کاهش پایداری غشاء نشان داد گیاه در شرایط خشکی به‌شدت آسیب دیده است و انباشت پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو مکانیسم دفاعی برای مقابله با این تغییرات

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

می‌باشد. همچنین استفاده از بیوچار به‌طور معنی‌داری سبب بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی شد که به‌نظر می‌رسد بیوچار با افزایش عناصر غذایی، بهبود رشد، دسترسی بیشتر ریشه به آب و افزایش ظرفیت نگهداشت آب در خاک به تعدیل اثرهای مخرب خشکی کمک کرده است. همچنین استفاده از ۷٪ بیوچار در محیط کشت اثرهای بهتری نسبت به ۳/۵٪ بیوچار در شرایط خشکی نشان داد.

منابع

Abdel-Hameed, E.S.S., Bazaid, S.A., Hagag, H.A. (2016). Chemical characterization of *Rosa damascena* Miller var. *trigintipetala* Dieck essential oil and it's *in vitro* genotoxic and cytotoxic properties. *Journal of Essential Oil Research*, *28*(2), 121-129.

Abideen, Z., Koyro, H.W., Huchzermeyer, B., Ansari, R., Zulfiqar, F., Gul, B.J.P.B. (2020). Ameliorating effects of biochar on photosynthetic efficiency and antioxidant defence of *Phragmites karka* under drought stress. *Plant Biology*, *22*(2), 259-266.

Akhtar, S.S., Li, G., Andersen, M.N., Liu, F. (2014). Biochar enhances yield and quality of tomato under reduced irrigation. *Agricultural Water Management*, *138*, 37-44.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, *24*(12), 1337-1344 .

Ali, M.A., Mjeed, A.J. (2017). Biochar and nitrogen fertilizers effects on growth and flowering of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium* L.) plant. *Kurdistan Journal of Applied Research*, *2*(1), 8-14.

Alizadeh, A., Alizade, V., Nassery, L., Eivazi, A. (2011). Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. *Technical Journal of Engineering and Applied Science*, *1*(3), 86-94 .

Amiri, S. R., Parsa, M., Ganjeali., A. (2010). The Effects of Drought Stress at Different Phenological Stages on Morphological Traits and Yield Components of a Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Greenhouse Conditions. *Field Crops Research*, *15*(1), 157-166. (In Persian).

Asghari, M.R. (2013). *New Hormones and Plant Growth Regulators (Non-classical), the Key to Managing Plant Growth and Sustainable Production of Healthy Crops in Agriculture*. Urmia Press. 325 pp.

Babaei, K., Moghaddam, M., Farhadi, N., Pirbalouti, A.G. (2021). Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. *Scientia Horticulturae*, *284*, 110-116.

Basso, A.S., Miguez, F.E., Laird, D.A., Horton, R., Westgate, M. (2013). Assessing potential of biochar for increasing water holding capacity of sandy soils. *GCB Bioenergy*, *5*(2), 132-143.

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207.

Beyer, W.F. Jr., Fridovich, I. (1987) Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, *161*, 559-566.

Bradford, M.M. (1979). Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye binding. *Annul Biochemistry*, *72*, 248-254.

Changxun, G., Zhiyong, P., Shuang, P. (2016). Effect of biochar on the growth of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. seedlings in Gannan acidic red soil. *Soil Science and Plant Nutrition*, *62*(2), 194-200.

Chaves, M.M., Oliveira, M.M. (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, *55*(407), 2365-2384.

Conversa, G., Bonasia, A., Lazzizera, C., Elia, A. (2015). Influence of biochar, mycorrhizal inoculation, and fertilizer rate on growth and flowering of Pelargonium (*Pelargonium zonale* L.) plants *Frontiers in Plant Science*, *6*, 429.

Ding, Y., Liu, Y., Liu, S., Li, Z., Tan, X., Huang, X., Zeng, G., Zhou, L., Zheng, B. (2016). Biochar to improve soil fertility, A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *36*(2), 1-18.

Durukan, H., Demirbas, A., Turkekul, I. (2020). Effects of biochar rates on yield and nutrient uptake of sugar beet plants grown under drought stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *51*(21), 2735-2745.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

Erdogan, U., Cakmakci, R., Varmazyarı, A., Turan, M., Erdogan, Y., Kıtır, N. (2016). Role of inoculation with multi-trait rhizobacteria on strawberries under water deficit stress. *Zemdirbyste-Agriculture, 103*(1), 67-76.

Farooq, M., Romdhane, L., Rehman, A., Al-Alawi, A.K., Al-Busaidi, W.M., Asad, S.A., Lee, D.J. (2021). Integration of seed priming and biochar application improves drought tolerance in cowpea. *Journal of Plant Growth Regulation*, *40*, 1972-1980.

Fattahi, M., Bonfill, M., Fattahi, B., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R. M., Palazon, J. (2016). Secondary metabolites profiling of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. at three phenological stages using uni-and multivariate methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 3*(4), 177-185.

Galmes, J., Flexas, J., Save, R., Medrano, H. (2007). Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Journal of Plant and Soil*, *290*, 139-155.

Gill, S.S., Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 48*(12), 909-930.

Guseynova, I., Suleymanov, S., Aliyev, J. (2006). Protein composition and native state of pigments of thylakoid membrane of wheat genotypes differently tolerant to water stress. *Biochemistry, 71*(2), 173-177.

Hafeez, Y., Iqbal, S., Jabeen, K., Shahzad, S., Jahan, S., Rasul, F. (2017). Effect of biochar application on seed germination and seedling growth of *Glycine max* (L.) Merr. under drought stress. *Pakistan Journal of Botany*, *49*, 7-13.

Haider, G., Koyro, H.W., Azam, F., Steffens, D., Müller, C., Kammann, C. (2015). Biochar but not humic acid product amendment affected maize yields via improving plant-soil moisture relations. *Plant and Soil*, *395*(1-2), 141-157.

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology, 51*(1), 463-499.

Hemeda, H.M., Kelin, B.P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *Journal of Food Science*, *55*, 184-185.

Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal of Plant Physiology*, *84*, 55-60.

Jafari, S., Garmdareh, S. E. H., Azadegan, B. (2019). Effects of drought stress on morphological, physiological, and biochemical characteristics of stock plant (*Matthiola incana* L.). *Scientia Horticulturae*, *253*, 128-133.

Karimi, E., Shirmardi, M., Dehestani Ardakani, M., Gholamnezhad, J., Zarebanadkouki, M. (2020). The effect of humic acid and biochar on growth and nutrients uptake of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *51*(12), 1658-1669.

Karthikeyan, B., Joe, M., Cheruth, A. (2009). Response of some medicinal plants to vesicular arbuscular mycorrhizal inoculations. *Journal of Scientific Research, 1*(2), 381-386 .

Khan, Z., Khan, M. N., Zhang, K., Luo, T., Zhu, K., Hu, L. (2021). The application of biochar alleviated the adverse effects of drought on the growth, physiology, yield and quality of rapeseed through regulation of soil status and nutrients availability. *Industrial Crops and Products*, *171*, 113878.

Khattab, M.M., Shaban, A.E., El-Shrief, A.H., El-Deen Mohamed, A. (2011). Growth and productivity of pomegranate trees under different irrigation levels. I: Vegetative growth and fruiting. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants, 3*(2), 194-198.

Khosravi, N., Dehestani Ardakani, M., Shirmardi, M., Gholamnezhad, J., Naserinasab, F. (2021). Effect of biochar and some biologic fertilizers on flowering and morphophysiological characteristics of *Narcissus tazetta* L. var. Shahla. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *22*(2), 199-202.

Lehmann, J., da Silva, J.P., Rondon, M., da Silva, C.M., Greenwood, J., Nehls, T., Steiner, C., Glaser, B. (2002). Slash-and-char: a feasible alternative for soil fertility management in the Central Amazon? 17th World Congress of Soil Science, Thailand, 14-21.

Lee, H.S. (2000). *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment.* Higher Education Press, Beijing, 195-197.

Li, J.H., Lv, G.H., Bai, W.B., Liu, Q., Zhang, Y.C., Song, J.Q. (2016). Modification and use of biochar from wheat straw (*Triticum aestivum* L.) for nitrate and phosphate removal from water. *Desalination and Water*

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

Treatment, *57*(10), 4681-4693.

Litchenthaler, H.K., Buschmann, C. (2001). Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1-6.

Liu, B., Cheng, L., Ma, F., Zou, Y., Liang, D. (2012). Growth, biomass allocation, and water use efficiency of 31 apple cultivars grown under two water regimes. *Agroforestry Systems*, *84*(2), 117-129.

Lobato, A.K.S., Oliveira Neto, C.F., Santos Filho, B.G., Costa, R.C.L., Cruz, F.J.R., Neves, H.K.B., Lopes, M.J.S. (2008). Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. Sambaiba) plants under water deficit. *Journal of Crop Science*, *2*, 25-32.

Lyu, S., Du, G., Liu, Z., Zhao, L., Lyu, D. (2016). Effects of biochar on photosystem function and activities of protective enzymes in *Pyrus ussuriensis* Maxim. under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *38*(9), 1-10.

Mahajan, S., Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *444*(2), 139-158.

Major, J., Lehmann, J., Rondon, M., Goodale, C. (2010). Fate of soil-applied black carbon: downward migration, leaching and soil respiration. *Global Change Biology*, *16*(4), 1366-1379.

Masojídek, J., Trivedi, S., Halshaw, L., Alexiou, A., Hall, D.O. (1991). The synergistic effect of drought and light stresses in sorghum and pearl millet. *Plant Physiology*, *96*(1), 198-207 .

Mehari, Z.H., Elad, Y., Rav-David, D., Graber, E.R., Harel, Y.M. (2015). Induced systemic resistance in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Botrytis cinerea* by biochar amendment involves jasmonic acid signaling. *Plant and Soil*, *395*(1-2), 31-44.

Metwally, S.A., Khalid, K.A., Abou-leila, B.H. (2013). Effect of water regime on the growth, flower yield, essential oil and proline contents of *Calendula officinalis*. *Nusantara Bioscience*, *5*(2), 65-69.

Molnár, I. (2002). The effects of drought stress on the photosynthetic processes of wheat and of *Aegilops biuncialis* genotypes originating from various habitats. *Acta Biologica Szegediensis*, *46*(4), 115-116 .

Naderi Arefi, A. (2020). Effects of drought stress on non-enzymatic antioxidants and photosynthetic pigments of cotton plant species (*Gossypium* spp.). *Iranian Journal of Cotton Research*, *8*(1), 137-154. (In Persian).

Naseri Moghadam, A., Bayat, H., Aminifard, M.H., Moradinezhad, F. (2020). Effects of drought and salinity stresses on some morphological and physiological characteristics of *Narcissus tazetta* L. flower. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *51*(1), 79-90. (In Persian).

Nazari, F., Khosh-Khui, M., Salehi, H., Eshghi, S. (2007). Effect of natural zeolite on vegetative and physiological characteristics of African marigold (*Tagetes erecta* L. 'Queen'). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *48*, 241–245.

Nikolaeva, M., Maevskaya, S., Shugaev, A., Bukhov, N. (2010). Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russian Journal of Plant Physiology*, *57*(1), 87-95 .

Novak, J.M., Lima, I., Xing, B., Gaskin, J.W., Steiner, C., Das, K.C., Schomberg, H. (2009). Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science*, *3*(2), 195-206.

Parida, A.K., Dagaonkar, V.S., Phalak, M.S., Aurangabadkar, L.P. (2008). Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum*, *30*(5), 619-627 .

Patel, P.K., Hemantaranjan, A. (2012). Antioxidant defence system in chickpea (*Cicer arietinum* L.): influence by drought stress implemented at pre-and post-anthesis stage. *American Journal of Plant Physiology*, *10*, 3932 .

Prapagdee, S., Tawinteung, N. (2017). Effects of biochar on enhanced nutrient use efficiency of green bean, *Vigna radiata* L. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*(10), 9460-9467.

Rahdari, P., Hosseini, S.M., Tavakoli, S. (2012). The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*, 1539-1547.

Rahimiyan, H., Banayan, M. (1996). *Physiological Bases of Plant Breeding*. Jahad Daneshgahi Publications. Ferdowsi University of Mashhad. 344 pp.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

Rao, D.E., Chaitanya, K.V. (2016). Photosynthesis and antioxidative defense mechanisms in deciphering drought stress tolerance of crop plants. *Biologia Plantarum*, *60*(2), 201-218.

Safahani, A.R., Noora, R. (2018). Effect of different levels of biochar on physiological traits of pumpkin under water shortage stress. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, *13*(49), 13-32.

Safari, S., Nazari, F., Vafaee, Y., Teixeira da Silva, J.A. (2023). Impact of rice husk biochar on drought stress tolerance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, *42*(2), 810-826.

Sairam, R.K., Siiukla. D.S., Saxsena, D.C. (1997). Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheet genotypes. *Biologia Plantarum*, *40*, 357-364.

Salehi, H., Bahadoran, M. (2015). Growth and flowering of two tuberoses (*Polianthes tuberosa* L.) cultivars under deficit irrigation by saline water. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *17*(2), 415-426.

Samarah, N., Mullen, R., Cianzio, S., (2004). Size distribution and mineral nutrients of soybean seeds in response to drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, *27*(5), 815-835.

Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., 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.

Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2007). Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *60*(2), 229-235.

Scarfone, S.C. (2007). *Professional Planting Design an Architectural and Horticultural Approach for Creating Mixed Bed Plantings*. Hoboken: Wiley, 272 p.

Semida, W.M., Beheiry, H.R., Sétamou, M., Simpson, C.R., Abd El-Mageed, T.A., Rady, M.M., Nelson, S.D., (2019). Biochar implications for sustainable agriculture and environment: A review. *South African Journal of Botany*, *127*, 333-347.

Sepaskhah, A.R., Yarami, N. (2009). Interaction effects of irrigation regime and salinity on flower yield and growth of saffron. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *84*(2), 216-222.

Setayesh-Mehr, Z., Ganjeali, A. (2013). Effects of drought stress on growth and physiological characteristics of dill (*Anethum graveolens* L.). *Journal of Horticultural Science*, *27*(1), 27-35. (In Persian).

Shekoofa, A., Emam, Y., Shekoufa, N., Ebrahimi, M., Ebrahimie, E. (2014). Determining the most important physiological and agronomic traits contributing to maize grain yield through machine learning algorithms: a new avenue in intelligent agriculture. *PLoS One*, *9*(5), e97288.

Šircelj, H., Tausz, M., Grill, D., Batič, F. (2005). Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *Journal of Plant Physiology*, *162*(12), 1308-1318 .

Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, K., Ladan Moghadam, A. (2021). Effect of foliar application of proline on morphological and physiological traits of *Calendula officinalis* L. under drought stress. *Journal of Ornamental Plants*, *11*(1), 13-30.

Tardieu, F., Parent, B., Caldeira, C.F., Welcker, C. (2014). Genetic and physiological controls of growth under water deficit. *Plant Physiology*, *164*(4), 1628-1635.

Toscano, S., Romano, D., Tribulato, A., Patanè, C. (2017). Effects of drought stress on seed germination of ornamental sunflowers. *Acta Physiologiae Plantarum*, *39*(8), 1-12.

Upadhyaya, H., Panda, S. (2004). Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration. *Biologia Plantarum*, *48*(4), 597-600 .

Wang, Q., Zhao, R., Chen, Q., Teixeira da Silva, J.A., Chen, L., Yu, X. (2019). Physiological and biochemical responses of two herbaceous peony cultivars to drought stress. *HortScience*, *54*(3), 492-498.

Wang, Y., Pan, F., Wang, G., Zhang, G., Wang, Y., Chen, X., Mao, Z. (2014). Effects of biochar on photosynthesis and antioxidative system of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings under replant conditions. *Scientia Horticulturae*, *175*, 9-15.

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

Waseem, M., Ali, A., Tahir, M., Nadeem, M., Ayub, M., Tanveer, A., Hussain, M. (2011). Mechanism of drought tolerance in plant and its management through different methods. *Continental Journal of Agriculture Science*, *5*, 10-25 .

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A., Abbassi, F. (2011). The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. *African Journal of Agricultural Research*, *6*(4), 798-807.

Yin, C., Peng, Y., Zang, R., Zhu, Y., Li, C. (2005). Adaptive responses of *Populus kangdingensis* to drought stress. *Physiologia Plantarum*, *123*(4), 445-451.

Yuan, J.H., Xu, R.K., Zhang, H. (2011). The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresource Technology*, *102*(3), 3488-3497.

Zadeh Bagheri, M., Al-Boali, F., Sadeghi, H., Javanmard, Sh. (2014). The effect of distant irrigation on ionic changes, relative water content, prolin level, and some general characteristics of petunia. *Journal of Horticultural Science*, *28* (3), 347-359. (In Persian).

Zahedifar, M., Najafian, S. (2017). *Ocimum basilicum* L. growth and nutrient status as influenced by biochar and potassium-nano chelate fertilizers. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *63*(5), 638-650.

Zollinger, N., Kjelgren, R., Cerny-Koenig, T., Kopp, K., Koenig, R. (2006). Drought responses of six ornamental herbaceous perennials. *Scientia Horticulturae*, *109* (3), 267-274.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]

Flower and Ornamental Plants (2023), 8(1): 21-46
Research article

The ameliorative effect of rice husk biochar on morpho-physiological and biochemical characteristics of African marigold (*Tagetes erecta* L.) under drought stress

Maryam Tavakoli Vala[1], Farzad Nazari[1*], Sirwan Babaei[2]

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj
2. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj
✉ f.nazari@uok.ac.ir

Abstract

Bedding plants are important elements in landscape construction, and their cultivation is limited by drought stress. Improving the cultivation medium of these flowers with organic materials such as biochar can be a sustainable and environmentally friendly solution to increase their tolerance to drought stress. For this purpose, a greenhouse research was conducted to mitigate the effects of drought on morpho-physiological and biochemical characteristics of African marigold by application of rice husk biochar. The factorial experiment was conducted with two factors of irrigation treatment at three levels of 100, 50 and 25% of the field capacity (FC) and biochar at three levels of 0, 3.5 and 7% (w/w) in a completely randomized design with 5 replications. The results showed that drought decreased the morphological factors of shoot height, shoot dry weight, number of leaves, number of lateral branches, number of flowers, and length and diameter of flowers, so their lowest value were obtained in 25% FC. Furthermore, the use of biochar improved the morphological traits mentioned under drought conditions. The activity of peroxidase and superoxide dismutase enzymes, hydrogen peroxide content, proline, malondialdehyde, soluble carbohydrates, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid increased under drought conditions. The use of biochar reduced these biochemical traits under drought conditions. Furthermore, relative water content of leaf, cell membrane stability index and soluble proteins showed a decreasing trend under drought conditions, and the use of biochar led to the improvement of these traits. In general, 7% biochar was more effective than 3.5% in reducing the adverse effects of drought stress. Therefore, 7% rice husk biochar can be recommended as a suitable soil improver to increase tolerance to drought stress in bedding plants for landscape purposes, although more investigations are needed both under field cultivation and at other applied amounts.

Keywords: Antioxidant, Bedding plants, Biochar, Water deficit.

[DOI: 10.61186/flowerjournal.8.1.21]