تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد چهارم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۱، ص ۲۴۳-۲۲۹

مقاله پژوهشی

اثر بیوچار و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) در شرایط عدم تنش و تنش خشکی

طاهره امامی[1*]

۱- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

* مسئول مکاتبه: t.emami@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۹/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۵ **DOI: 10.22034/CSRAR.2022.320762.1172**

چکیده

به منظور بررسی اثر بیوچار (در سه سطح بدون بیوچار به عنوان شاهد، ۲۰ تن در هکتار و ۴۰ تن در هکتار) و اسید سالیسیلیک (در سه سطح عدم مصرف، ۰/۵ میلی‌مولار و ۱ میلی‌مولار) در دو محیط رطوبتی (عدم تنش و تنش خشکی) آزمایش تجزیه مرکب در دو مکان، بصورت اسپلیت پلات- فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۹ انجام شد. صفات مورد ارزیابی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کربوهیدارت‌های محلول، پروتئین کل، فعالیت آنزیم پرولین و عملکرد بیولوژیک بودند. نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار و اسید سالیسیلیک در هر دو مکان سبب افزایش عملکرد بیولوژیک و میزان کلروفیل a نسبت به شاهد گردیدند. بیشترین افزایش عملکرد بیولوژیک ۴۵/۹۷ و ۴۵/۴۲ درصد به ترتیب در ترکیب تیماری ۴۰ تن بیوچار و عدم محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و ترکیب تیماری ۲۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۰/۵ درصد در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد بود. میزان صفت پرولین در همه ترکیبات تیماری کاهش یافت؛ به جز در ترکیب تیماری عدم تنش خشکی و استفاده از ۴۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی ۰/۵ درصد اسید سالیسیلیک که ۲۵/۷۱ درصد افزایش نشان داد. بیشترین افزایش کارتنوئید (۳۶/۶۶ درصد) در صورت استفاده از ۴۰ تن بیوچار و عدم محلولپاشی اسید سالیسیلیک در شرایط ۵۰ درصد تنش خشکی بدست آمد. هم‌چنین در صورت استفاده از ۲۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک یک درصد در شرایط تنش خشکی ۵۰ درصد میزان کارتنوئید ۳۳/۳۳ درصد افزایش نسبت به شاهد داشت. استفاده از بیوچار و اسید سالیسیلیک در بهبود اثرهای منفی ناشی از تنش خشکی در گیاه سرخارگل مفید بود.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، پرولین، عملکرد بیولوژیک، کارتنوئید، کربوهیدارت محلول، کلروفیل

مقدمه

سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) گیاهی است علفی، چندساله و متعلق به تیره آفتابگردان یا میناسانان[1]، که اسانس و عصاره آن در صنایع داروسازی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربرد فراوانی دارد و خصوصیات ضد میکروبی، ضد اکسیداسیون و خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد، ضد آلرژی، ضد تومور و ضد التهاب به آن‌ها نسبت داده شده است (Gualandi, 2010; Kim *et al*., 2014; Parsons *et al*., 2018). کمبود آب و عدم کارایی روش های آبیاری عوامل اصلی محدودکننده توسعه بخش کشاورزی به ویژه در نواحی خشک و نیمه خشک محسوب می‌شوند (Yang *et al*., 2021). خشکی یکی از تنش‌های مهم کنترل‌کننده عملکرد محصولات بوده و مشخص شده که روی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژی گیاهان تأثیرگذار است (Hasanvandi *et al*., 2014). استفاده از موادی که سبب القای واکنش گیاه نسبت به شرایط تنش شود و بتواند اثرات ناشی از تنش‌های محیطی را کاهش دهد مهم می‌باشد (Yang *et al*., 2021).

اسید سالیسیلیک یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید[2] یک هورمون گیاهی از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان محلول در آب است که صدمات ناشی از تنش خشکی را در گیاه کاهش می‌دهد (Raskin, 1992; Abbaszadeh *et al*., 2020). بسته به غلظت به کار رفته، نوع گونه گیاهی، دوره‌ی رشدی و شرایط محیطی، اسید سالیسیلیک اثرات متفاوتی روی فرآیندهای رشدی گیاهان دارد (Eraslan *et al*., 2007; Abbaszadeh *et al*., 2020). گزارشات حاکی از آن است که مصرف خارجی اسید سالیسیلیک

1. Asteraceae

2. 4-Hydroybenzoic acid

سبب بهبود رشد، افزایش مقاومت به تنش خشکی و کاهش اثر مضر تنش‌های اکسیداتیو در مراحل مختلف رشد گیاه می‌شود (Gharib, 2007; Abbaszadeh *et al*., 2020; Zafar *et al*., 2021). در بررسی سطوح مختلف اسید سالیسیلیک در گیاه همیشه بهار تحت شرایط آبیاری محدود دریافتند که اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی و زراعی این گیاه داشته و توانسته اثرات مخرب تنش خشکی را به میزان قابل توجهی کاهش دهد (Moradi Marjane and Goldani, 2011). هم‌چنین در بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک در گیاه بابونه آلمانی گزارش شد که استفاده از اسید سالیسیلیک منجر به تغییراتی در ترکیب‌های کومارینی و فنلی گیاه شده منجر به افزایش آنتی اکسیدانت‌ها شده است (Pastirova *et al*., 2004). کمبود آب باعث کاهش معنی‌داری در صفات عملکرد و اجزای عملکرد و صفت سطح برگ کلزا گردید ولی تیمار با اسید سالیسیلیک موجب کاهش این اثرات و بهبود صفات عملکردی و افزایش سطح برگ شد (Miar Sadeghi *et al*., 2011).

بیوچار نوعی زغال تهیه شده از زیست‌توده‌های گیاهی و ضایعات کشاورزی است که سوختن آن‌ها در حضور مقادیر کم اکسیژن و یا عدم حضور آن انجام می‌شود (Abd El-Mageed *et al*., 2021). بیوچار ضمن بهبود خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک‌ها دارای دامنه‌ای از شکل‌های عناصر غذایی بوده که با سرعت های متفاوتی آزاد شده و تأثیرات متفاوتی را بر حاصلخیزی خاک تخلخل و توزیع اندازه منافذ خاک، فضایی را برای حفظ مواد مغذی ایجاد می‌کند (Mukherjee and Zimmerman, 2013; Downie *et al*., 2009). در بررسی تأثیر بیوچار در گیاه نعنا فلفلی گزارش کردند که افزودن بیوچار به خاک میزان فسفر گیاه را تحت تأثیر قرار داد و بر نسبت ساقه به ریشه و صفات فیزیولوژیک مؤثر و معنی‌دار بود (Rezaeian, 2014).

درک مکانیزم‌های پاسخ گیاهان به تنش خشکی در مناطق مستعد خشک‌سالی ضرورت دارد. ازآنجایی‌که مطالعات انجام شده در بررسی تأثیر بیوچار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و بررسی اثرات متقابل این مواد در شرایط کم‌آبی بر رشد و عملکرد گیاه سرخارگل و میزان جذب و نگهداری آب در این گیاه محدود می باشد؛ این آزمایش با هدف بررسی ارتباط بین صفات فیزیولوژیک و عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی سرخارگل تحت شرایط عدم تنش و تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال زراعی ۱۳۹۹ در استان ایلام در دو شهرستان ایوان (منطقه ۱، طول جغرافیایی: ۴۵ درجه و ۵۰ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی: ۳۳ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی) و شهرستان دهلران (منطقه ۲، طول جغرافیایی: ۴۷ درجه و ۹ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی: ۳۲ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی) بر روی گیاه دارویی سرخارگل اجرا گردید.

آزمایش تجزیه مرکب در دو منطقه، بصورت اسپلیت پلات-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل فاکتور آبیاری در سه سطح شاهد (عدم تنش)، تنش ۵۰ درصد و تنش ۷۰ درصد به عنوان فاکتور اصلی (A)، اسید سالیسیلیک به عنوان فاکتور دوم (B) در سه سطح (عدم مصرف، ۰/۵ میلی‌مولار و ۱ میلی مولار) و بیوچار سبوس جو به عنوان فاکتور سوم (C) در سه سطح (بدون بیوچار به عنوان شاهد، ۲۰ تن در هکتار و ۴۰ تن در هکتار)، فاکتورهای فرعی می‌باشد. بدین ترتیب در این آزمایش فاکتور آبیاری در کرت اصلی و سطوح مختلف اسید سالیسیلیک و بیوچار در کرت‌های فرعی قرار گرفت.

اسید سالیسیلیک به صورت سه مرحله در مرحله نهایی رشد ساقه، ابتدای گل‌دهی قبل از شروع اعمال تنش و در زمان ۵۰ درصد گل‌دهی، در کرت‌های مربوطه محلول‌پاشی گردید (Hasan beige *et al*., 2021). به منظور افزایش میزان تأثیرگذاری، بیوچار زیر بذور قرار داده شد.

برای اعمال تنش خشکی میزان رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی از طریق معادله ۱ تعیین گردید:

معادله (۱): ۱۰۰ × وزن خاک خشک / (وزن خاک خشک - وزن خاک تر) =درصد رطوبت در ظرفیت زراعی

روش کار به این صورت بود که ابتدا ردیف‌های کاشت در هر دو شرایط عدم تنش و تنش خشکی مشابه هم آبیاری شدند و با قرار دادن بشر مدرج در زیر یکی از سوراخ‌های تیپ حجم آب مصرفی اندازه‌گیری گردید. از عمق توسعه ریشه (۳۰ -۰ سانتی‌متری) بعد از سپری شدن ۲۴ ساعت از آبیاری نمونه‌برداری انجام شد و توزین گردیدند. نمونه‌ها به آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و درصد رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی مشخص گردید. تنش خشکی در سه سطح شاهد (عدم تنش)، تنش ۵۰ درصد و تنش ۷۰ درصد ظرفیت زراعی اعمال گردید (Rezaie Alulu *et al*., 2020).

صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل عملکرد بیولوژیک، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کربوهیدارت محلول، پروتئین کل، پرولین بودند. برای استخراج اسیدآمینه پرولین از بافت‌های برگ از روش (Bates *et al.*, 1973) با استفاده از معرف ناین هیدرین و برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنوئید از روش (Arnon, 1949) استفاده شد.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید در ابتدا ۰/۳۳ گرم از نمونه برگی را درون هاون چینی ریخته، به منظور سهولت کار با مقداری ازت مایع آن را خوب خورد کرده و سپس استون ۸۰ درصد اضافه گردید و خوب له شد سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. این کار آن‌قدر انجام شد تا مواد باقی‌مانده درون کاغذ صافی سفید و فاقد کلروفیل شود به‌طوری‌که نباید حجم عصاره از ۱۰ سی-سی بیشتر شود. عصاره حاصله درون فالکون ریخته و درون سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد در دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده گردید. میزان جذب نوری هر یک از نمونه‌ها در این دستگاه در طول موج‌های ۶۶۱/۶، ۶۴۴/۸ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شده و پس از قرار دادن در معادلات ۲-۴، میزان کلروفیل a، b بر حسب میلی‌گرم بر گرم و کارتنوئید نمونه برگی محاسبه گردید.

معادله (۲):

غلظت کلروفیل a =((۱۱/۲۴ × A ۶۶۱/۶ – ۲/۰۴ × A ۶۴۴/۸) × ml Aseton) / mg leaf tissue

معادله (۳):

غلظت کلروفیل b =((۲۰/۱۳ × A ۶۴۴/۸ - ۴/۱۹ × A ۶۶۱/۶) × ml Aseton) / mg leaf tissue

معادله (۴):

غلظت کارتنوئید = (((۱۰۰۰ × A ۴۷۰ –۱/۹Ca – ۶۳/۱۴Cb) /۲۱۴) × ml Aseton) / mg leaf tissue

برای اندازه‌گیری میزان اسیدآمینه پرولین برگ ابتدا ۰/۲ گرم از قسمت پهنک برگ را جدا کرده، سپس در هاون چینی بوسیله مقداری ازت مایع خوب خورد شد. آنگاه ۱۰ سی‌سی اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد درون هاون ریخته و نمونه برگی خوب له شد و بعد از آن از کاغذ صافی عبور داده و از محلول حاصل میزان دو سی‌سی برداشته به همراه دو سی‌سی محلول آماده شده ناین هیدرین و دو سی‌سی اسید استیک درون لوله آزمایش درپوش‌دار ریخته و به مدت یک ساعت درون حمام آب گرم قرار داده شد. سپس نمونه‌ها از حمام خارج و درون یخ قرار داده شدند تا دمای آن به دمای اتاق برسد، به‌نحوی‌که اگر به آن دست زده شود احساس گرما نشود. در این مرحله در زیر هود، به هر نمونه مقدار چهار سی‌سی تولوئن اضافه کرده و خوب تکان داده شد تا کاملاً مخلوط شوند. پس از چند لحظه دو فاز حاصل شد که فاز پایینی شفاف‌تر بوده و فاز بالایی قرمز رنگ (بسته به میزان پرولین برگ) بود. از تولوئن به عنوان شاهد در دستگاه اسپکتروفوتومتر برای اندازه‌گیری طول موج نوری استفاده شد. میزان چهار سی‌سی از فاز بالایی را برداشته و درون اسپکتروفوتومتر تحت طول موج ۵۲۰ نانومتر قرار داده و عدد قرائت شده به جای متغیر X در معادله ۴ قرار داده شد. Y بدست آمده را در معادله ۵ جای‌گذاری کرده تا میزان پرولین برگ برحسب میکرومول بر میلی‌گرم برگ بدست آید.

معادله (۵):

$$Y=42/281X+4/6698$$

$$\text{میزان پرولین} = \frac{Y\times 5}{200(\text{میلی‌گرم برگ})}$$

برای آماده کردن محلول ناین هیدرین به ۱/۲۵ گرم پودر ناین هیدرین (این مقدار برای ۲۵ نمونه در یک تکرار کافی است)، مقدار ۳۰ سی‌سی اسید استیک اضافه کرده و سپس روی بخار آب نگه داشته و به آرامی تکان داده تا به کلی حل شود پس از آن مقدار ۲۰ سی‌سی از ترکیب (۲۰/۵ سی‌سی اورتوفسفریک + ۱۲ سی‌سی آب مقطر مخلوط شده) برداشته و به آن اضافه می‌گردد.

غلظت پروتئین محلول کل با استفاده از روش (Bradford *et al.*, 1976) اندازه‌گیری گردید که بر اساس آن ۰/۲ گرم نمونه برگی در نیتروژن مایع خورد شده و مقدار ۲۰ میلی‌گرم pvp (پلی وینیل پروپیلیدین) به آن اضافه شد سپس ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم با اسیدیته هفت حاوی سدیم متابایسولفیت (حاوی ۰/۰۱۹ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر) به نمونه در حال خورد شدن اضافه گردید. نمونه به دست آمده با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس فاز رویی که حاوی پروتئین‌های محلول نمونه بود برداشته شد و ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۷۵ میکرولیتر گلیسرول ۵۰ درصد مخلوط گردید. به منظور اندازه‌گیری پروتئین ۳۰ میکرولیتر عصاره برگ را با ۷۲۰ میکرولیتر محلول برادفورد مخلوط نموده و پس از پنج دقیقه میزان جذب نوری محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. با توجه به منحنی استاندارد که برای رسم آن از سرم آلبومین گاوی (BSA) استفاده شد و

هم‌چنین میزان جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نـانومتر پـروتئین نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آمد.

برای تعیین میزان کربوهیدرات‌های محلول در یک لوله سربسته میزان ۰/۲ گرم از بافت برگ را در ۱۰ میلـی‌لیتـر اتـانول ۹۵ درصـد مخلوط گردید و به مدت یک ساعت در داخل حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. به یک میلی لیتر از هر نمونه سرد شـده، یـک میلـی لیتـر فنـل پـنج درصـد و پـنج میلـی لیتـر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد اضافه گردید. قرائـت در طـول مـوج ۴۸۳ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد و میزان کربوهیدرات‌های به دست آمده بر حسب میکروگرم گلوگز در گرم وزن تـر از جـدول استاندارد استخراج گردید (Irrigoyen *et al*., 1992).

تجزیه آماری به صورت آزمایش تجزیه مرکـب در قالـب طـرح بلوک کامل تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش اثرات سه‌گانه تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار برای همه صفات به‌جز پروتئین معنی‌دار بود (جدول ۱) که بدین معنی است که گیاه در شرایط اعمال سطوح مختلف تنش خشکی در صورت استفاده از سطوح مختلف فاکتورهای مورد بررسی واکنش‌های متفاوتی نشان داد. پروتئین از نظر اثر اصلی مکان در سطح احتمال یک درصد و از نظر اثرات اصلی تنش خشکی و بیوچار در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل چهارگانه فقط برای دو صفت کارتنوئید و پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

عملکرد بیولوژیک

مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار نشان داد که به ترتیب در شرایط عدم تنش خشکی، تنش ۵۰ و ۷۵ درصد و با استفاده از ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار بیوچار و سطوح متفاوت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (عدم محلول‌پاشی، ۰/۵ و یک درصد اسید سالیسیلیک)، در همه ترکیبات تیماری عملکرد بیولوژیک افزایش یافت (به‌جز در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد و استفاده از ۴۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی ۵۰ درصد اسید سالیسیلیک که ۱/۱۴ درصد کاهش نشان داد). بیشترین افزایش عملکرد بیولوژیک (۴۵/۹۷ درصد) در ترکیب تیماری ۴۰ تن بیوچار و عدم محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و هم‌چنین ترکیب تیماری ۲۰ تن بیوچار با محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۰/۵ درصد در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد به میزان ۴۵/۴۲ درصد بود (جدول ۲).

کلروفیل a و b

مقایسه میانگین برهمکنش اثرات سه گانه تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار نشان داد که میزان کلروفیل a در همه ترکیبات تیماری روندی افزایشی را داشت (به‌جز در تنش خشکی ۵۰ درصد با ۲۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی یک درصد اسید سالیسیلیک که کاهش نشان داد) به گونه‌ای که بیشترین افزایش (۳۳/۷۹ درصد) در تنش خشکی ۷۵ درصد با ۴۰ تن بیوچار و استفاده از محلول‌پاشی یک درصد اسید سالیسیلیک به دست آمد.

به‌طورکلی در شرایط استفاده از محلول‌پاشی یک درصد اسید سالیسیلیک به همراه استفاده از ۲۰ و ۴۰ تن بیوچار با اعمال تنش خشکی ۷۵ درصد میزان کلروفیل a نسبت به شرایط عدم تنش خشکی و تنش خشکی ۵۰ درصد نه تنها کاهش نداشته بلکه افزایش چشم‌گیری نشان داد (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار نشان داد بیشترین میزان افزایش در کلروفیل b (۵۸/۱۳ درصد) در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد و استفاده از ۲۰ تن بیوچار به همراه محلول‌پاشی ۰/۵ درصد اسید سالیسیلیک بود. درصورتی‌که از محلول‌پاشی یک درصد اسید سالیسیلیک استفاده شد؛ میزان افزایش کلروفیل b نسبت به حالت عدم استفاده و محلول‌پاشی ۰/۵ درصد اسید سالیسیلیک ۲۰ درصد شد. هم‌چنین در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد و استفاده از ۴۰ تن بیوچار افزایش کلروفیل b در شرایط عدم استفاده از اسید سالیسیلیک، ۰/۵ و یک درصد به ترتیب ۵۶، ۱۵/۷۸ و ۳۶/۸۴ درصد شد که نشان‌دهنده تأثیر بیوچار در افزایش کلروفیل b می‌باشد (جدول ۲).

کربوهیدرات‌های محلول

مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار نشان داد که شرایط عدم تنش خشکی، تنش ۵۰ درصد و تنش ۷۵ درصد و استفاده از ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار بیوچار تحت شرایط عدم استفاده از محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، محلول‌پاشی ۰/۵ و یک درصد اسید سالیسیلیک، در همه ترکیبات تیماری مورد

استفاده میزان کربوهیدارت محلول کاهش یافت؛ به گونه‌ای که کمترین میزان کاهش کربوهیدارت محلول (۶/۳۱ درصد) مربوط به ترکیب ۲۰ تن بیوچار و عدم محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در تنش خشکی ۷۵ درصد بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که در صورت استفاده از ۴۰ تن بیوچار و سطوح متفاوت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در سطوح تنش خشکی میزان کربوهیدارت محلول کاهش بیشتری نسبت به شرایطی که از ۲۰ تن بیوچار استفاده شد، نشان داد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و بیوچار بر خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد سرخارگل تحت تأثیر تنش خشکی

Table 1- Analysis of variance of the effect of salicylic acid and biochar on physiological traits and yeild of Echinacea under drought stress

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی Df	عملکرد بیولوژیک Biological yield	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	کربوهیدرات‌های محلول Soluble carbohydrates	پروتئین Protein	پرولین Proline
مکان Location	1	1.99**	1.13**	1.02**	0.004**	51.39*	5.43*	3.82**
خطای مکان Location error	4	0.01	0.02	0.02	0.0004	114.82	1.71	0.74
تنش خشکی Drought stress	2	980.24**	64.36**	9.55**	0.51**	18315.24**	834.86**	206.05**
مکان × تنش خشکی drought ×Location stress	2	0.08^{ns}	0.11**	0.06**	0.001**	0.75^{ns}	0.62^{ns}	8.12**
خطای اصلی Main error	8	0.03	0.0008	0.002	0.00001	19.01	1.80	0.51
اسید سالیسیلیک Salicylic acid	2	24.85**	1.13**	1.10**	0.01**	6623.99**	1.70^{ns}	2.97**
مکان × اسید سالیسیلیک salicylic ×Location acid	2	0.01^{ns}	0.012*	0.002^{ns}	0.0008**	4.32^{ns}	0.004^{ns}	2.31**
بیوچار Biochar	2	29.27**	1.02**	0.012**	0.02**	4443.58**	2.75*	24.40**
مکان × بیوچار biochar×Location	2	0.02^{ns}	0.014**	0.01**	0.0008**	0.90^{ns}	0.01^{ns}	0.26^{ns}
تنش خشکی × اسید سالیسیلیک ×Drought stress salicylic acid	4	1.23**	0.07**	0.22**	0.0004**	631.65**	0.03^{ns}	1.95**
تنش خشکی × بیوچار ×Drought stress biochar	4	0.78**	0.02**	0.007**	0.0001**	150.13**	0.05^{ns}	3.92**
اسید سالیسیلیک × بیوچار ×Salicylic acid biochar	4	0.72**	0.02**	0.01**	0.0005**	145.32**	0.05^{ns}	0.43^{ns}
مکان × تنش خشکی × اسید سالیسیلیک drought ×Location salicylic acid×stress	4	0.002 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.0005**	4.32 ^{ns}	0.001 ^{ns}	4.07**
مکان × تنش خشکی × بیوچار drought ×Location biochar×stress	4	0.004^{ns}	0.001^{ns}	0.0006^{ns}	0.0006**	0.61 ^{ns}	0.006^{ns}	2.61**
مکان × اسید سالیسیلیک × بیوچار salicylic ×Location biochar×acid	4	0.02^{ns}	0.002^{ns}	0.0006^{ns}	0.0006**	1.54^{ns}	0.002^{ns}	0.93**
تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار ×Drought stress ×salicylic acid biochar	8	0.49**	0.01**	0.01**	0.0002**	54.93**	0.06^{ns}	0.61*
مکان × تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار drought ×Location salicylic acid ×stress biochar×	8	0.01^{ns}	0.0008^{ns}	0.0004^{ns}	0.0004**	1.54^{ns}	0.002^{ns}	0.85**
خطای باقی مانده Remaining error	96	0.04	0.002	0.001	0.0003	7.99	0.81	0.24
ضریب تغییرات CV (%)	-	2.62	2.20	3.89	1.62	7.79	7.92	11.86

**، * و ^{ns}؛ به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و غیر معنی‌داری است.

**, * and ^{ns} *indicates significance* in P < *0.01*, P < *0.05 and non-significance, respectively.*

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر برهمکنش تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار بر صفات مورد مطالعه (برش‌دهی در سطح تنش خشکی و اسید سالیسیلیک)

Table 2- Mean comparison of interactions effects of drought stress × salicylic acid × biochar interaction on the studied traits (Slicing at drought stress and salicylic acid)

تنش خشکی Drought stress	اسید سالیسیلیک Salicylic acid	بیوچار Biochar	عملکرد بیولوژیک Biological yield ($t \times ha^{-1}$)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/g FW)	کربوهیدرات‌های محلول Soluble carbohydrate (µg glucose in g FW)
شاهد Control	شاهد Control	شاهد Control	11.20±0.16 c	2.47±0.04c	1.21±0.03c	29.86±0.82 a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	12.06±0.09b	2.59±0.03b	1.36±0.02 b	23.98±1.08b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	12.93±0.04a	2.69±0.02a	1.53±0.01a	19.94±0.80c
		LSD (5%)	0.36	0.09	0.06	3.03
	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 $mg \times L^{-1}$	شاهد Control	12.00±0.07b	2.60±0.04c	1.27±0.03c	25.55±0.88a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	12.74±.05 a	2.68±0.02 b	1.35±0.01 b	20.41±0.79 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	12.82±.04 a	2.92±0.01a	1.57±0.01a	13.37±0.89 c
		LSD (5%)	0.18	0.06	0.04	2.82
	یک میلی‌گرم در لیتر 1 $mg \times L^{-1}$	شاهد Control	12.80±0.06 c	2.74±0.03 c	1.27±0.03 c	25.55±0.88a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	13.87±0.03 b	2.86±0.02 b	1.54±0.02 b	15.15±1.70 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	14.64±0.11 a	3.22±0.01 a	1.78±0.02 a	8.49±1.50 c
		LSD (5%)	0.23	0.62	0.06	4.67
تنش خشکی ۵۰ درصد Drought stress 50%	شاهد Control	شاهد Control	5.49±0.16 c	2.79±0.04 c	0.75±0.04 c	a54.54±0.93
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	6.58±0.09 b	2.95±0.05 b	0.90±0.03 b	46.83±0.91 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	7.140.06 a	3.09±0.03 a	1.05±0.02 a	39.53±0.74 c
		LSD (5%)	0.36	0.10	0.06	2.83
	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 $mg \times L^{-1}$	شاهد Control	6.79±0.09 b	3.16±0.05 b	1.20±0.05 b	45.31±0.83 c
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	6.91±0.05 b	3.15±0.04 b	1.19±0.04 b	25.33±1.27 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	7.68±0.05 a	3.26±.03 a	1.40±0.05 a	15.84±1.28 a
		LSD (5%)	0.18	0.07	0.06	3.68
	یک میلی‌گرم در لیتر 1 $mg \times L^{-1}$	شاهد Control	7.19±0.05 b	3.20±0.03 b	1.19±0.05 b	34.33±1.03 a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	70.26±0.06 b	3.24±0.02 b	1.49±0.04 a	21.03±2.12 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	8.49±0.09 a	3.45±0.03 a	1.53±0.06 a	12.67±0.79 c
		LSD (5%)	0.19	0.08	0.08	4.46
تنش خشکی ۷۵ درصد Drought stress 75%	شاهد Control	شاهد Control	3.06±0.13 c	0.86±0.08 c	0.43±0.06 c	79.92±1.00 a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	3.84±0.09 b	1.05±0.06 b	0.57±0.05 b	74.87±0.76 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	4.45±0.08 a	1.15±0.05 a	0.680.03 a	66.84±0.95 c
		LSD (5%)	0.25	0.07	0.08	3.19
	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 $mg \times L^{-1}$	شاهد Control	3.98±0.11 c	0.93±0.08 c	0.50±0.05 c	66.83±0.94 a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	4.22±0.06 b	1.05±0.05 b	0.60±0.04 b	44.46±1.14 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	5.81±0.05 a	1.20±0.05 a	0.78±0.04 a	44.89±0.95 b
		LSD (5%)	0.19	0.04	0.05	3.35
	یک میلی‌گرم در لیتر 1 $mg \times L^{-1}$	شاهد Control	4.37±.05 b	1.09±0.05 b	0.57±0.05 c	55.32±1.69 a
		۲۰ تن در هکتار 20 $t \times ha^{-1}$	4.32±0.18 b	1.14±0.04 b	0.66±0.04 b	42.52±3.16 b
		۴۰ تن در هکتار 40 $t \times ha^{-1}$	6.04±0.08 a	1.31±0.05 a	0.85±0.03 a	30.11±2.75 c
		LSD (5%)	0.32	0.06	0.06	8.93

حروف یکسان در هر ستون برش داده شده، نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD است. میانگین±خطای استاندارد.

Means with the same letter are not significantly different according to LSD test at 0.05. Mean ± standard error.

پروتئین

از نظر فاکتور تنش خشکی بیشترین غلظت پروتئین (۱۴/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط ۵۰ درصد تنش خشکی و کم‌ترین آن (۶/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد مشاهده شد (جدول ۹). از نظر فاکتور بیوچار، بیشترین غلظت پروتئین (۱۱/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۴۰ تن در هکتار مشاهده شد و کم‌ترین آن (۱۱/۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمار ۲۰ تن در هکتار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی مکان، تنش خشکی و بیوچار بر صفات مورد مطالعه

Table 3- Mean comparison of main effect of location, drought stress and biochar on the studied traits

تیمار Traitment		پروتئین Protein (mg/g FW)
مکان Location	1	11.56±0.35 [a]
	2	11.20±0.38 [a]
	(5%) LSD	0.57
تنش خشکی Drought stress	شاهد Control	12.61±0.04 [b]
	۵۰ درصد 50%	14.55±0.18 [a]
	۷۵ درصد 75%	6.98±0.05 [c]
	(5%) LSD	0.59
بیوچار Biochar	شاهد Control	11.14±0.44 [b]
	۵ تن در هکتار 5 $t \times ha^{-1}$	11.40±0.46 [ab]
	۱۰ تن در هکتار 10 $t \times ha^{-1}$	11.55±0.45 [a]
	(5%) LSD	0.34

حروف یکسان در هر ستون برش داده شده، نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD است. میانگین±خطای استاندارد.

Means with the same letter are not significantly different according to LSD test at 0.05. Mean ± standard error.

کارتنوئید

مقایسه میانگین برهمکنش سطوح مختلف اثرات سه گانه تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار در مکان اول نشان داد که بیشترین افزایش کارتنوئید (۳۶/۶۶ درصد) در صورت استفاده از ۴۰ تن بیوچار و عدم محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط ۵۰ درصد تنش خشکی بدست آمد. هم‌چنین در صورت استفاده از ۲۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک یک درصد در شرایط تنش خشکی ۵۰ درصد میزان کارتنوئید ۳۳/۳۳ درصد افزایش نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۴).

پرولین

مطابق جدول تجزیه واریانس پرولین از نظر اثرات اصلی مکان، تنش خشکی، اسید سالیسیلیک، بیوچار و برهمکنش‌های مکان × تنش خشکی، مکان × اسید سالیسیلیک، تنش خشکی × اسید سالیسیلیک، تنش خشکی × بیوچار، مکان × تنش خشکی × اسید سالیسیلیک، مکان × تنش خشکی × بیوچار، مکان × اسید سالیسیلیک × بیوچار، و مکان × تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار در سطح احتمال یک درصد و از نظر تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار برای صفت پرولین نشان داد که در شرایط عدم تنش خشکی، تنش ۵۰ و ۷۵ درصد عدم تنش خشکی و در صورت استفاده از ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار بیوچار با استفاده از سطوح متفاوت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (شاهد، ۰/۵ و یک درصد اسید سالیسیلیک)، میزان صفت پرولین در همه ترکیبات تیماری کاهش یافت جز در ترکیب تیماری عدم تنش خشکی و استفاده از ۴۰ تن بیوچار و محلول‌پاشی ۰/۵ درصد اسید سالیسیلیک اسید که ۲۵/۷۱ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر برهمکنش مکان × تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار بر صفات مورد مطالعه
(برش‌دهی در سطح سال، تنش خشکی و اسید سالیسیلیک) (مکان اول)

Table 4- Mean comparison of interactions effects of location × drought stress × salicylic acid × biochar on the studied traits (Slicing at year, drought stress and salicylic acid) (location 1)

تنش خشکی Drought stress	اسید سالیسیلیک Salicylic acid	بیوچار Biochar	کارتنوئید Carotenoid (mg/g FW)	پرولین Proline (mg/g FW)
شاهد Control	شاهد Control	شاهد Control	0.004 ^{c}±0.42	0.04 ^{a}±2.24
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.001 ^{b}±0.43	0.01 ^{b}±2.14
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.002 ^{a}±0.45	0.01 ^{c}±2.05
		LSD (5%)	0.011	0.07
	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 mg×L^{-1}	شاهد Control	0.003 ^{c}±0.41	0.02 ^{a}±2.06
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.003 ^{b}±0.43	0.02 ^{b}±1.91
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.005 ^{a}±0.46	0.03 ^{c}±1.74
		LSD (5%)	0.014	0.09
	یک میلی‌گرم در لیتر 1 mg×L^{-1}	شاهد Control	0.002 ^{c}±0.43	0.17 ^{b}±3.50
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.002 ^{b}±0.47	0.11 ^{a}±4.40
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.001 ^{a}±0.48	0.33 ^{c}±2.21
		LSD (5%)	0.007	0/78
تنش خشکی ۵۰ درصد Drought stress 50%	شاهد Control	شاهد Control	0.001 ^{c}±0.36	0.14 ^{a}±4.55
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.001 ^{b}±0.38	0.16 ^{b}±3.88
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.003 ^{a}±0.39	0.01 ^{b}±3.89
		LSD (5%)	0.007	0.43
	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 mg×L^{-1}	شاهد Control	0.002 ^{c}±0.30	0.02 ^{a}±5.91
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.004 ^{b}±0.40	0.30 ^{b}±4.45
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.001 ^{a}±0.41	0.02 ^{c}±3.64
		LSD (5%)	0.01	0.41
	یک میلی‌گرم در لیتر 1 mg×L^{-1}	شاهد Control	0.005 ^{b}±0.38	0.12 ^{a}±5.95
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	.003 ^{a}±0.42	0.17 ^{b}±5.21
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.005 ^{a}±0.43	0.11 ^{c}±4.06
		LSD (5%)	0.016	0.48
تنش خشکی ۷۵ درصد Drought stress 75%	شاهد Control	شاهد Control	0.006 ^{b}±0.23	0.21 ^{a}±8.06
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.006 ^{b}±0.23	0.01 ^{b}±6.20
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.003 ^{a}±0.25	0.07 ^{b}±6.06
		LSD (5%)	0.015	0.46
	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 mg×L^{-1}	شاهد Control	0.003 ^{b}±0.24	0.03 ^{a}±6.09
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.004 ^{a}±0.26	0.03 ^{a}±5.85
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.004 ^{a}±0.27	0.21 ^{b}±4.18
		LSD (5%)	0.013	0.44
	یک میلی‌گرم در لیتر 1 mg×L^{-1}	شاهد Control	0.003 ^{b}±0.25	0.34 ^{a}±6.21
		۲۰ تن در هکتار 20 t×ha^{-1}	0.005 ^{a}±0.28	0.41 ^{b}±4.92
		۴۰ تن در هکتار 40 t×ha^{-1}	0.003 ^{a}±0.29	0.20 ^{ab}±5.17
		LSD (5%)	0.014	1.14

حروف یکسان در هر ستون برش داده شده، نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD است. میانگین±خطای استاندارد.

Means with the same letter are not significantly different according to LSD test at 0.05. Mean ± standard error.

ادامه جدول ۴- مقایسه میانگین اثر برهمکنش مکان × تنش خشکی × اسید سالیسیلیک × بیوچار بر صفات مورد مطالعه (برش‌دهی در سطح مکان، تنش خشکی و اسید سالیسیلیک) (مکان دوم)

Table 4- (Continued)- Mean comparison of interactions effects of location × drought stress × salicylic acid × biochar on the studied traits (Slicing at year, drought stress and salicylic acid) (location 2)

اسید سالیسیلیک Salicylic acid	بیوچار Biochar	کارتنوئید (mg/g FW) Carotenoids	پرولین (mg/g FW) Proline
شاهد Control	شاهد Control	0.41±0.004 c	3.93±0.21 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.43±0.002 b	2.04±0.01 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.44±0.003 a	1.79±0.11 b
	LSD (5%)	0.011	0.49
۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 mg×L-1	شاهد Control	0.41±0.004 c	1.91±0.02 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.43±0.003 b	1.81±0.02 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.44±0.002 a	1.69±0.03 c
	LSD (5%)	0.011	0.09
یک میلی‌گرم در لیتر 1 mg×L-1	شاهد Control	0.42±0.003 b	1.72±0.01 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.44±0.005 a	1.61±0.58 a
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.45±0.004 a	1.52±0.58 a
	LSD (5%)	0.015	1.65
شاهد Control	شاهد Control	0.350.002 c	4.02±0.02 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.36±0.001 b	3.83±0.02 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.38±0.002 a	3.74±0.01 b
	LSD (5%)	0.008	0.09
۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 mg×L-1	شاهد Control	0.39±0.009 ab	3.74±0.02 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.38±0.004 b	3.60±0.02 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.40±0.002 a	3.49±0.02 c
	LSD (5%)	0.02	0.08
یک میلی‌گرم در لیتر 1 mg×L-1	شاهد Control	0.38±0.003 c	3.43±0.02 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.40±0.002 b	3.29±1.16 a
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.41±0.002 a	3.27±1.16 a
	LSD (5%)	0.009	3.29
شاهد Control	شاهد Control	0.21±0.006 b	8.46±0.31 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.21±0.003 b	6.58±0.15 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.24±0.002 a	4.81±0.42 c
	LSD (5%)	0.015	1.10
۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 0.5 mg×L-1	شاهد Control	0.22±0.003 c	7.45±0.29 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.24±0.003 b	5.55±0.03 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.026±0.004 a	5.11±0.27 b
	LSD (5%)	0.011	0.80
یک میلی‌گرم در لیتر 1 mg×L-1	شاهد Control	0.23±0.004 b	8.31±0.33 a
	۲۰ تن در هکتار 20 t×ha-1	0.26±0.005 a	6.51±0.53 b
	۴۰ تن در هکتار 40 t×ha-1	0.27±0.009 a	5.01±0.12 c
	LSD (5%)	0.024	1.29

حروف یکسان در هر ستون برش داده شده، نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD است. میانگین±خطای استاندارد.

Means with the same letter are not significantly different according to LSD test at 0.05. Mean ± standard error.

بحث

مطالعات روی برخی گیاهان دارویی نشان‌دهنده تأثیر اعمال تنش خشکی در کاهش عملکرد می‌باشد (Fatima *et al*., 2002; Eman *et al*., 2008). کاهش عملکرد بیولوژیک با افزایش شدت تنش تأییدکننده این مطلب است که گیاه از همان ابتدای رشد بسته به وجود منابع میزان رشد خود را تنظیم می‌کند و به دلیل کمبود آب در این تیمار در کل دوره، رشد طولی و تقسیم سلولی در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بوده است (Eman *et al*., 2008). بهبود عملکرد بیولوژیک در نتایج به‌دست آمده مطالعه حاضر می تواند به دلیل تأثیر غیرمستقیم بیوچار و اسید سالیسیلیک بر میزان ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیک باشد. احتمالاً بهبود شرایط آبی گیاه در اثر استفاده از بیوچار می‌تواند دلیل افزایش عملکرد بیولوژیک باشد. هم‌چنین محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک هم با ایجاد ممانعت از تبخیر برگی آب کمک شایانی به بهبود روند رشدی گیاه داشته است. اسید سالیسیلیک در گیاهانی که تحت تنش‌های محیطی از قبیل تنش خشکی قرار دارند؛ می‌تواند نقش حفاظتی و دفاعی داشته و مقاومت گیاه را در برابر آن‌ها افزایش دهد (Abreu and Munné-Bosch, 2008). استفاده از اسید سالیسیلیک نیز توانسته است از کاهش تعداد برگ و گل بکاهد.

تنش خشکی باعث تجزیه کلروفیل به منظور آزادسازی نیتروژن جهت استفاده مجدد در برگ‌های جوان مریم گلی شد (Rong-Hua *et al*., 2006). از دست رفتن آب بافت‌های برگ نه تنها مانع ساختن کلروفیل می‌شود؛ بلکه به نظر می‌رسد که تخریب کلروفیل را هم باعث می‌گردد، هم‌چنین کمبود آب باعث شکسته شدن کلروپلاست و کاهش غلظت کلروفیل می‌شود (Heidari-Sharifabad, 2011). محتوای نسبی کلروفیل برگ‌های گیاه در ارتباط با میزان فتوسنتز آن بوده و احتمالاً حفظ محتوای بالای کلروفیل موجب حفظ عملکرد تحت شرایط تنش کمبود آب می گردد (Abreu and Munne-Bosh, 2008).

در بررسی تأثیر کود بیولوژیک و بیوچار بر رشد و عملکرد گیاه لوبیا چشم بلبلی افزودن بیوچار به میزان ۹۱ تن در هکتار توانست بر میزان کلروفیل a و b، تأثیر افزاینده نسبت به شاهد ایجاد کند (Yaghoobi, 2014). افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، b و کارتنوئید در گیاهان تحت شرایط استفاده از اسید سالیسیلیک و بیوچار می‌تواند به دلیل گسترش بیشتر سطح برگ و نیز دوام آن باشد که با ایجاد منبع فیزیولوژیک کارآمد به منظور استفاده هر چه بیشتر از نور دریافتی، باعث افزایش تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است (Khaleesi, 2014). باتوجه به نتایج آزمایش به نظر می‌رسد این روند به دلیل استفاده از بیوچار باشد چنان که در صورت استفاده از بیوچار آب مورد نیاز گیاه تأمین و گیاه از حالت تنش خارج شده بنابراین گیاه با افزایش میزان رنگیزه سبز روبرو است و از میزان کارتنوئید کاسته می‌شود. هم‌چنین اعمال محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک باعث می‌شود که برگ گیاه به تنش مقاوم و از میزان کارتنوئید برگی کاسته شود. القای سنتز کارتنوئیدها در شرایط تنش می‌تواند به دلیل نقش حفاظتی آن‌ها در تشکیلات فتوسنتزی باشد؛ زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و نهایت تنش اکسیداتیو می‌باشند (Koyro, 2006). کارتنوئیدها علاوه بر خاموش کردن اکسیژن یکتایی، به طور مستقیم می‌توانند توسط این رادیکال آزاد اکسید شوند. به علاوه قادرند حالت برانگیخته سه تایی کلروفیل را خاموش نمایند؛ بنابراین به طور غیرمستقیم نیز تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند. هم‌چنین کارتنوئیدها از طریق سازوکاری که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (Loggini *et al*., 1999).

کاهش میزان پروتئین محلول برگ در شرایط تنش کمبود آب در گزارش‌های محققین بیان شده است (Ranja *et al*., 2001; Robiul Islam *et al*., 2010). روبیسکو مهم‌ترین و فراوان‌ترین پروتئین محلول برگ است. هر گونه کاهش در غلظت پروتئین محلول نشان دهنده کاهش غلظت روبیسکو بوده که این امر می‌تواند کاهش فعالیت فتوسنتز جاری را در پی داشته باشد (Saeidi *et al*., 2011). کاهش محتوی پروتئین محلول تحت تنش می‌تواند نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال آزاد، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسیدآمینه آزاد ازجمله پرولین مرتبط باشد (Ranja *et al*., 2001).

گزارش شده است که بیوچار بر چرخه عناصر و جلوگیری از هدر روی کربن، نیتروژن و فسفر در خاک تأثیر فوق‌العاده‌ای دارد که دارای دامنه‌ای از شکل‌های عناصر غذایی می‌باشد که با سرعت های متفاوتی آزاد گردیده و تأثیرات متفاوتی را بر حاصلخیزی خاک دارند (Mukherjee *et al*., 2013). افزودن بیوچار باعث کاهش آبشویی نیترات و افزایش نیتروژن در محدوده‌ی ریشه می

شود (Novak *et al*., 2009). سطح ویژه بالای بیوچار، فضای لازم برای تجمع کاتیون‌ها و آنیون‌ها و پیوند آن‌ها با عناصر و فلزات خاک را فراهم کرده و ظرفیت حفظ مواد غذایی خاک را بهبود بخشیده و موجب افزایش غلظت پروتئین گیاه و کاهش میزان کربوهیدرات می‌گردد (Li *et al*., 2014).

افزایش و تجمع پرولین در برگ‌های تحت تنش به علت افزایش سنتز و کاهش اکسیداسیون است. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محافظ در برابر تنش نیز عمل می‌کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با درشت مولکول‌ها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آن‌ها در شرایط تنش کمک می‌کند (Koc *et al*., 2010). تجمع پرولین در شرایط تنش کمبود آب تأثیر بیولوژیک متعددی دارد. هنگامی‌که کمبود آب اتفاق می‌افتد و یا پتانسیل آب محلول خاک کاهش می‌یابد؛ تولید پرولین آزاد افزایش یافته و سبب افزایش فشار اسمزی شیره سلولی می‌گردد (Kuznetsov and Shevyakova, 1999). بعضی از پژوهش‌گران معتقدند که تجمع پرولین در گیاه به هنگام کمبود آب نقش ذخیره کربن و نیتروژن را بازی می‌کند که نقش آن در مراحل بعد از تنش حائز اهمیت است (Kavikishore *et al*., 2005).

اسید سالیسیلیک در گیاهانی که تحت تنش‌های محیطی از قبیل تنش خشکی قرار دارند؛ می‌تواند نقش حفاظتی و دفاعی داشته و مقاومت گیاه را در برابر آن‌ها افزایش دهد (Abreu and Munne-Bosh, 2008). در این بین، احتمالاً اسید سالیسیلیک با ایجاد مقاومت برگی از تأثیرات تنش خشکی کاسته و میزان پرولین را افزایش داده است. تنش خشکی ضمن کاهش محتوای آب در بافت‌های گیاهان، باعث محدود شدن رشد و برخی تغییرات بیوشیمیایی و متابولیکی در آن‌ها می‌گردد (French and Turner, 1991). استفاده از بیوچار و اسید سالیسیلیک باعث کاهش فشارهای محیطی شده و میزان آن‌ها را در حد مطلوبی کاهش می‌دهد (Yaghoobi, 2014).

نتیجه‌گیری کلی

به عنوان نتیجه‌گیری کلی گیاه در شرایط اعمال سطوح مختلف تنش خشکی در صورت استفاده از سطوح مختلف فاکتورهای مورد بررسی واکنش‌های متفاوتی نشان داد که مشخص گردید درمجموع استفاده از بیوچار و اسید سالیسیلیک در بهبود اثرهای منفی ناشی از تنش خشکی در گیاه سرخارگل مفید بود.

References

Abbaszadh, B., Layeghhaghighi, M., Azimi, R. and Hadi, N. 2020. Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 144: 345-367.

Abd El-Mageed, T.A., Belal, E.E., Rady, M.O.A., Abd El-Mageed, S.A., Mansour, E., Awad, M.F. and Semida, W.M. 2021. Acidified biochar as a soil amendment to drought stressed (*Vicia faba* L.) plants: influences on growth and productivity, nutrient status, and water use efficiency. *Agronomy*, 11: 2-18.

Abreu, M. and Munné-Bosch, S. 2008. Salicylic acid may be involved in the regulation of droughtinduced leaf senescence in perennials: A case study in field-grown *Salvia officinalis* L. plants. *Environmental and Experimental Botany*, 64: 105-112.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.

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

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.

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

Downie, A., Crosky, A. and Munroe, P. 2009. Physical properties of biochar. In: Biochar for environmental management: science and technology (Eds. Lehmann, J. & Joseph, S.), Earthscan.

Eman, E.A., Hendawi, S.T., Azza, E.E.D. and Omer, E.A. 2008. Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. *American Eurasian Journal of Agriculture & Environment Science*, 4(4): 443-450.

Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. and Alpaslan, M. 2007. Impact of exogenous salicylic acid on growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113: 120-128.

Fatima, S., Farooqi, A.H.A. and Sharma, S. 2002. Physiological and metabolic responses of different genotypes of *Cymbopogon martinii* and *C. winterianus* to water stress. *Plant Growth Regulation*, 37: 143-149.

French, R.J. and Turner, N.C. 1991. Water deficit change dry matter partitioning and seed yield in narrow leafed lupines. *Australian Journal of Agricultural Research*, 42: 471-484.

Gharib, F.A.E. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(2): 294-301.

Ghosh, D., Roy, K. and Mallik, S.C. 1981. Effect of fertilizers and spacing on yield and others characters of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Indian Agriculture*, 25: 191-197.

Gualandi, R.J. 2010. Fungal endophytes enhance growth and production of natural products in *Echinacea purpurea* (Moench.). Masters Thesis, The University of Tennessee, Knoxville.

Hasanbeige, H., Saidi, M. and Mohammadi, M. 2021. Effects of gibberellic acid and salicylic acid application on morphophysiological characteristics and essential oil yield of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 36(6): 1038-1051.

Hasanvandi, M.S., Ayneband, A., Rafiee, M., Mojadam, M. and Rasekh, A. 2014. Effects of supplemental irrigation and super absorbent polymer on yield and seed quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under dry-farming conditions. *Bulletin of Environment, Pharmacology, and Life Sciences*, 3(12): 174-185

Heidari-Sharifabad, H. 2001. Plant aridity and drought. Research Institute of Forests and Rangelands Publication, Tehran. (In Persian).

Irrigoyen, J.H., Emerich, D.W. and Sanchez Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Physiologia Pantarum*, 84: 55-66.

Kavikishore, P.B., Sangam, S., Amrotha, R.N., Laxmi, P. and Naidu, S. 2005. Regulation of prolin biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants. Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 88: 424-438.

Khaleesi, Kh. 2014. The effect of nitrogen and biochar on quantitative and qualitative traits of maize in low irrigation conditions. Master Thesis, School of Agriculture. Shahroud University of Technology. (In Persian).

Kim, H.R., Oh, S.K., Lim, W., Lee, H.K., Moon, B.I. and Seoh, J.Y. 2014. Immune enhancing effects of *Echinacea purpurea* root extract by reducing regulatory T cell number and function. *Natural Product Communications*, 9: 511-514.

Koc, E., İ slek, C. and Üstun, A.S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, 23: 1-6.

Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*, 56: 136-149.

Kuznetsov, V.V. and Shevyakova, N.I. 1999. Prolin under stress: biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46: 274-286.

Li, J.H., Lv, G.H., Bai, W.B., Liu, Q., Zhang, Y.C. and Song, J.Q. 2014. Modification and use of biochar from wheat straw (*Triticum aestivum* L.) for nitrate and phosphate removal from water. *Desalination and Water Treatment*, 57(10): 4681-4693.

Loggini, B., Scartazza, A., Brugonli, E. and Navari-Izzo, F. 1999. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology*, 119: 1091-1099.

Miar Sadeghi, S., Shekari, F., Fotovet, R. and Zangani, E. 2011. The effect of priming by salicylic acid on vigor and seedling growth of canola (*brassica napus*) under water deficit condition. *Iranian Journal of Plant Biology*, 2(6): 55-69.

Mirjalili, M.H., Salehi, P., Naghdi Badi, H. and Sonboli, A. 2006. Volatile constituents of the flowerheads of three Echinacea species cultivated in Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 21: 355-358.

Moradi Marjane, E. and Goldani, M. 2011. Evaluation of different salicylic acid levels on some growth characteristics of pot marigold (*calendula officinalis* l.) under limited irrigation. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 4(1): 33-45.

Mukherjee, A. and Zimmermanm A.R. 2013. Organic carbon and nutrient release from a range of laboratory-produced biochars and biochar–soil mixtures. *Geoderma*, 194: 122-130.

Novak, J.M., Lima, I., Xing, B., Gaskin, J.W., Steiner, C., Das, K.C., Ahmedna, M., Rehrah, D., Watts, D.W. and Busscher, W.J. 2009. Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science*, 3: 195-206.

Parsons, J.L., Cameron, S.I., Harris, C.S. and Smith, M.L. 2018. Echinacea biotechnology: advances, commercialization and future considerations. *Pharmaceutical Biology*, 56: 485-494.

Pastirova, A., Repcak, M. and Eliasova, A. 2004. Salicylic acid induces changes of coumarin metabolites in *Matricaria chamomilla* L. *Plant Science*, 167(4): 819-824.

Ranjan, R., Bohra, S.P. and Jeet, A.M. 2001. Plant senescence. Jodhpur, *Agrobios New York*, pp. 18-42.

Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annul Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43: 439-463.

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

Rezaeian, A. 2014. Effect of Biochar and mycorrhiza on absorption, transport and accumulation of cadmium in the peppermint plant. Master's thesis, Faculty of Agriculture, University of Shahrod. (In Persian).

Rezaie Alulu, A., Kheiry, A., Sani Khani, M. and Arghavani, M. 2020. The effect of salicylic acid, glycine betaine and gamma amino butyric acid foliar spray on Carla antioxidant activity under water deficit stress. *Plant Ecophysiology*, 12(40): 140-151.

Robiul Islam, M.R., Hu, Y., Mao, S., Jia, P., Eneji, A.E. and Xue, X. 2010. Effect of water-saving superabsorbent polymer on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in corn (*Zea mays* L.) under drought stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 813-819.

Rong-Hua, L.I., Pei-Guo, G.U.O., Baumz, M., Grando, S. and Ceccarelli, S. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricultural Science*, 10: 751-757.

Saedi, M., Moradi, F., Ahmadi, E., Sepehri, R., Najafian, G. and Shaabani, A. 2011. The effect ofterminal drought stress on physiological characteristics and source-sink relationship in two cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Iranian Journal of Agricultural Science*, 12(4): 392-408.

Sepaskhah, A.R., Tavakoli, A.R. and Mousavi S.F. 2000. Principles and applications of deficit irrigation. Tehran: Iranian National Committee on Irrigation and Drainage (IRNCID). P. 288. (In Persian).

Shah, S., Sander, S., White, C.M., Rinaldi, M. and Coleman, C. 2007. Evaluation of *Echinacea* for the prevevtion and treatment of the common cold: a metaanalysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7: 473-480.

Siddique, M.R.B., Hamid A. and Islam M.S. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41: 35-39.

Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.

Yaghoobi, M. 2014. Effect of some biological fertilizer and biochar on plant growth and yield of cowpea. Master Thesis, Shahroud University of Technology. (In Persian).

Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Liu, Z. and Chen, S. 2021. Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7: 2-36.

Zafar, Z., Rasheed, F., Atif, R.M., Javed, M.A., Maqsood, M. and Gailing, O. 2021. Foliar application of salicylic acid improves water stress tolerance in *Conocarpus erectus* L. and *Populus deltoides* L. Saplings: evidence from morphological, physiological, and biochemical changes. *Plants*, 10: 2-16.

Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z.L. and Jiang, Y. 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, 90: 47-52.

Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 4, Issue 1, Spring and Summer 2022, P. 229-243

Effect of biochar and salicylic acid on physiological traits and yield of echinacea (*Echinacea purpurea* L.) under non-stress and drought stress conditions

Tahereh Emami[1*]

[1] Department for Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

[*]Corresponding Author: t.emami@pnu.ac.ir

Received: 20 December 2021 Accepted: 14 April 2022 **DOI: 10.22034/CSRAR.2022.320762.1172**

Abstract

Introduction: Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) is a herbaceous, perennial plant in the sunflower family; its essential oil and extract are widely used in the pharmaceutical, food, health, and cosmetic industries; and it has antimicrobial, anti-oxidant, and radical -neutralizing properties. Anti-allergy, anti-tumor, and anti-inflammatory properties have been ascribed to them. In arid and semiarid regions, a lack of water and inefficient irrigation techniques are the primary factors limiting the development of the agricultural sector. Drought is one of the most influential stresses on crop performance, and it is well known that it affects a number of physiological processes in plants. This investigation sought to determine the impact of biochar and salicylic acid on the physiological traits and yield of echinacea (*Echinacea purpurea* L.) under non-stress and drought -stress conditions.

Materials and Methods: In order to examine the effect of biochar (in three levels without biochar as control, 20 t×ha^{-1} and 40 t×ha^{-1}) and salicylic acid (in three levels of zero, 0.5 mM and 1 mM) in two humid environments (no stress and drought stress), a factorial experiment in split plot experiment was carried out in Ilam province (two locations) in a randomized complete block design with three replicates in 2020. The evaluated traits included chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, soluble carbohydrates, total protein, proline activity, and biological yield.

Results and Discussion: The results indicate that the highest increase in biological yield was 45.97% and 45.42%, respectively, in the treatment combination of 40 tons of biochar and no salicylic acid foliar spray and the treatment combination of 20 t ha^{-1} of biochar and 0.5% salicylic acid foliar spray in the condition of 75% drought stress. Proline content decreased in all treatment compounds; except in the combination of non-drought stress treatment and use of 40 t ha^{-1} of biochar and 0.5% salicylic acid which increased by 25.71%. The highest increase in carotenoids (36.66%) was obtained if 40 t ha^{-1} of biochar were used and salicylic acid was not sprayed under 50% drought stress. Also, the results show that by using 20 t ha^{-1} of biochar and spraying 1% salicylic acid under 50% drought stress, the amount of carotenoids increased by 33.33% compared to the control.

Conclusion: As one of the growth regulators, salicylic acid was used to increase plant tolerance to stresses such as drought. In addition, biochar had a positive impact on the enhancement of several physiological characteristics and echinacea yield. *Echinacea purpurea* L. appears to benefit from the use of biochar and salicylic acid to mitigate the negative effects of drought stress.

Keywords: Biological yield, Carotenoids, Chlorophyll, Proline, Protein, Soluble carbohydrates