بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی

رشته مهندسی کشاورزی گرایش زراعت

رساله دکتری

ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار

نگارنده: زهرا بیطرفان

اساتید راهنما

دکتر حمیدرضا اصغری

دکتر طاهره حسنلو

اساتید مشاور

دکتر احمد غلامی

دکتر فواد مرادی

تیر ۱۳۹۷

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده: کشاورزی

گروه: زراعت

رساله دکتری خانم زهرا بیطرفان به شماره دانشجویی: ۹۱۲۵۳۲۵

تحت عنوان: ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار

در تاریخ ..... توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک دکتری مورد ارزیابی و با درجه ..... مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی : دکتر حمیدرضا اصغری		نام و نام خانوادگی : دکتر احمد غلامی	
نام و نام خانوادگی : دکتر طاهره حسنلو		نام و نام خانوادگی : دکتر فواد مرادی	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی : دکتر حسن مکاریان		نام و نام خانوادگی : دکتر محمدرضا عامریان	
نام و نام خانوادگی : دکتر منوچهر قلی‌پور			
نام و نام خانوادگی : دکتر خدایار همتی			

تقدیم به

مهربان فرشتگان زندگیم، پدر و مادر عزیزم

با سپاس از خداوند بزرگ و متعال که راه تحصیل علم و دانش را بر من گشود.

با تشکر فراوان از:

اساتید راهنمای گرانقدرم، جناب آقای دکتر حمیدرضا اصغری و سرکار خانم دکتر طاهره حسنلو که شرایط لازم برای انجام این مطالعه را فراهم نمودند و صمیمانه مرا در انجام این طرح یاری نمودند.

اساتید مشاور گرانقدرم، جناب آقای دکتر احمد غلامی و جناب آقای دکتر فواد مرادی که با مشاوره‌های ارزنده‌شان مرا در هر چه بهتر شدن این رساله یاری نمودند.

خانواده عزیزم که وجود و راهنمایی هایشان باعث دلگرمی من بود.

و تمامی دوستان و عزیزانی که در طی این تحقیق به اینجانب یاری رساندند.

تعهد نامه

اینجانب **زهرا بیطرفان** دانشجوی دوره دکتری رشته **مهندسی کشاورزی- زراعت** دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه "ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار" تحت راهنمائی جناب آقای دکتر حمیدرضا اصغری و سرکار خانم دکتر طاهره حسنلو متعهد می شوم:

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

تاریخ ۱۳۹۷/۵/۲

امضای دانشجو زهرا بیطرفان

مالکیت نتایج و حق نشر

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

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

ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار

چکیده

به‌منظور ارزیابی پاسخ اکوفیزیولوژیک اکوتیپ‌های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار آزمایشی در دو مرحله در گلخانه و مزرعه پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. بدین منظور ۶ اکوتیپ پاکوتاه شنبلیله (دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی‌شهر)، ۲ سطح بیوچار (کاربرد و عدم کاربرد) و ۲ سطح آبیاری (آبیاری کامل و تنش خشکی) در نظر گرفته شد. آزمایش گلخانه‌ای و مزرعه‌ای به ترتیب به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار و اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (آبیاری به عنوان کرت اصلی و ترکیبات بیوچار و اکوتیپ به عنوان کرت فرعی) با ۳ تکرار اجرا گردید. ماده‌ی آلی اولیه جهت تهیه بیوچار سبوس برنج در نظر گرفته شد و بیوچار آن به میزان ۸-۷ درصد وزن/ وزن حجمی خاک مخلوط با خاک گلدان در گلخانه و در لایه‌ی بالایی خاک در مزرعه مورد استفاده قرار گرفت. تیمار آبیاری در گلخانه بر اساس ظرفیت زراعی با در نظر گرفتن ۹۰-۷۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان آبیاری نرمال و ۵۰-۳۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان تنش خشکی و در مزرعه بر اساس دور آبیاری با در نظر گرفتن ۴ روز دور آبیاری به‌عنوان آبیاری نرمال و ۸ روز دور آبیاری به عنوان تنش خشکی از مرحله ۵۰ درصد گلدهی اعمال شد. عملکرد، اجزای عملکرد، برخی صفات فیزیولوژیک نظیر میزان کلروفیل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی از ترکیبات بذر نظیر پروتئین، قند، روغن، تریگونلین و دیاسژنین در این آزمایشات مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد تنش خشکی تأثیر کاهشی معنی‌داری بر صفات مورد بررسی در هر دو آزمایش داشت. با این وجود بیوچار اثرات منفی ناشی از تنش را تعدیل و مانع از کاهش رشد و عملکرد شد. کاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی عملکرد را به ترتیب به میزان ۱۵/۴۱ و ۸/۳۵ درصد در شرایط

گلخانه و به ترتیب به میزان ۲۴/۳۳ و ۲۶/۶۶ درصد در شرایط مزرعه افزایش داد. در میان اکوتیپ‌ها، اکوتیپ رهنان در هر دو آزمایش نسبت به سایر اکوتیپ‌ها عملکرد بهتری داشت. تغییرات تریگونلین موجود در بذر با کاربرد بیوچار در هر دو رژیم آبیاری در اکوتیپ‌ها متفاوت بود. به‌طور کلی کاربرد بیوچار با بهبود شرایط مانع از تجمع متابولیت های ثانویه نظیر تریگونلین که در شرایط تنش میزان تولید آنها افزایش می‌یابد، می‌گردد؛ اما از طرفی با افزایش عملکرد، موجب افزایش عملکرد تریگونلین در واحد سطح می‌شود. میزان دیاسژنین بذر در شرایط گلخانه تنها تحت تاثیر بیوچار قرار گرفته و کاربرد بیوچار میزان دیاسژنین بذر را افزایش داد.

کلمات کلیدی: اکوتیپ، بیوچار، تریگونلین، دیاسژنین، عملکرد و اجزای عملکرد، کم‌آبیاری، متابولیت‌های ثانویه.

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

۱- زهرا بیطرفان، حمیدرضا اصغری، طاهره حسنلو، احمد غلامی، فواد مرادی. تاثیر کاربرد بیوچار بر عملکرد و اجزای عملکرد اکوتیپ های گیاه دارویی شنبلیله در رژیم های مختلف آبیاری. همایش ملی گیاهان دارویی (تحقیقات، تولید و فناوری)، اسفند ۱۳۹۵ دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.

2- Zahra Bitarafan, HamidReza Asghari, Tahereh Hasanloo, Ahmad Gholami, Foad Moradi. The Effect of High Concentration of Biochar on Yield Components of Water Stressed and Irrigated Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*). 18th International Plant Nutrition Colloquium (IPNC), August 2017, Copenhagen University, Copenhagen, Denmark.

۳- زهرا بیطرفان، حمیدرضا اصغری، طاهره حسنلو، احمد غلامی، فواد مرادی. پاسخ توده‌های گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella foenum graecum*) به کاربرد بیوچار در شرایط کم‌آبیاری. مجله ی بوم‌شناسی کشاورزی.

۴- زهرا بیطرفان، حمیدرضا اصغری، طاهره حسنلو، احمد غلامی، فواد مرادی. تاثیر بیوچار بر میزان تریگونلین بذر اکوتیپ‌های گیاه دارویی شنبلیله در شرایط کم‌آبیاری. مجله‌ی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

مقدمه ۲

۱-۱- شنبلیله ۴

۱-۲- خشکی ۵

۱-۳- بیوچار ۶

۱-۴- اهداف تحقیق ۸

فصل دوم: کلیات و بررسی منابع

۲-۱- خصوصیات گیاه شناسی شنبلیله ۱۰

۲-۲- منشأ و پراکنش ۱۰

۲-۳-کاشت ۱۱

۲-۴- داشت ۱۲

۲-۵- برداشت ۱۲

۲-۶- شیمی گیاه ۱۳

۲-۶-۱- تریگونلین ۱۴

۲-۶-۲- دیاسژنین ۱۵

۲-۷- کاربردهای دارویی شنبلیله ۱۶

۲-۸- مفهوم تنش ۱۷

۲- ۹- خشکی و تنش خشکی ۱۸

۲-۱۰- اثرات تنش خشکی بر گیاه ۲۱

۲-۱۰-۱- تاثیر تنش خشکی بر تجمع متابولیت ها در سلول ۲۴
۲-۱۱- مدیریت تنش خشکی ۲۶
۲-۱۲- بیوچار ۲۷
۲-۱۳- عوامل مؤثر بر خصوصیات بیوچار ۳۱
۲-۱۴- کاربرد بیوچار ۳۲
۲-۱۵- تأثیر بیوچار بر خصوصیات فیزیکی خاک ۳۵
۲-۱۶- تأثیر بیوچار بر pH خاک ۳۶
۲-۱۷- تأثیر بیوچار بر عناصر غذایی ۳۷
۲-۱۸- تأثیر بیوچار بر آبشویی عناصر غذایی ۳۸
۲-۱۹- تأثیر بیوچار بر راندمان مصرف کود ۳۹
۲-۲۰- تأثیر بیوچار بر ویژگی های میکروبی خاک ۴۰
۲-۲۱- تأثیر بیوچار بر کیفیت خاک ۴۱
۲-۲۲- تأثیر بیوچار بر رشد و عملکرد گیاه ۴۲

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱- مختصات جغرافیایی و شرایط اقلیمی محل اجرای طرح ۴۶
۳-۲- مشخصات خاک مزرعه و گلخانه ۴۶
۳-۳- آزمایش گلخانه ۴۷
۳-۴- آزمایش مزرعه ۴۹
۳-۴-۱- آماده‌سازی زمین و اجرای آزمایش ۵۰
۳-۵- تهیه و استفاده از بیوچار ۵۰
۳-۶- کاشت، داشت و برداشت ۵۲
۳-۷- نمونه‌برداری و اندازه گیری صفات ۵۲

۳-۷-۱- استخراج و سنجش کلروفیل ۵۳
۳-۷-۲- اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و پراکسیداز) و پروتئین کل ۵۳
۳-۷-۳- اندازه‌گیری قند محلول کل ۵۸
۳-۷-۴- اندازه‌گیری روغن ۵۹
۳-۷-۵- اندازه‌گیری ترکیبات دارویی (تریگونلین و دیاسژنین) ۶۰
۳-۷-۶- اندازه‌گیری تنفس خاک ۶۳
۳-۸- تعیین کیفیت بیوچار تهیه‌شده- آزمایش گلخانه‌ای ۶۴
۳-۹- تجزیه وتحلیل آماری ۶۵

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- آزمایش گلخانه ۶۸
۴-۱-۱- ارتفاع بوته ۶۸
۴-۱-۲- تعداد غلاف در بوته ۷۰
۴-۱-۳- تعداد دانه در غلاف ۷۱
۴-۱-۴- وزن صد دانه ۷۳
۴-۱-۵- تعداد شاخه اصلی در بوته ۷۵
۴-۱-۶- تعداد شاخه فرعی در بوته ۷۷
۴-۱-۷- وزن دانه در بوته ۷۸
۴-۱-۸- میزان کلروفیل کل برگ ۸۰
۴-۱-۹- میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان برگ: کاتالاز و پراکسیداز ۸۱
۴-۱-۱۰- میزان پروتئین کل دانه ۸۳
۴-۱-۱۱- میزان قند کل دانه ۸۴
۴-۱-۱۲- میزان روغن کل دانه ۸۵

۴-۱-۱۳- میزان تریگونلین دانه ۸۵
۴-۱-۱۴- میزان دیاسژنین دانه ۸۶
۴-۱-۱۵-تنفس خاک ۸۷
۴-۲- آزمایش مزرعه ۸۸
۴-۲-۱- ارتفاع بوته ۸۸
۴-۲-۲- تعداد غلاف در بوته ۹۱
۴-۲-۳- تعداد دانه در غلاف ۹۵
۴-۲-۴- وزن صد دانه ۹۸
۴-۲-۵- تعداد شاخه اصلی در بوته ۱۰۰
۴-۲-۶- تعداد شاخه فرعی در بوته ۱۰۲
۴-۲-۷- عملکرد دانه ۱۰۴
۴-۲-۸- میزان کلروفیل کل برگ ۱۱۰
۴-۲-۹- میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان برگ: پراکسیداز و کاتالاز ۱۱۲
۴-۲-۱۰- میزان پروتئین کل دانه ۱۱۴
۴-۲-۱۱- میزان قند کل دانه ۱۱۶
۴-۲-۱۲- میزان روغن کل دانه ۱۱۷
۴-۲-۱۳- میزان تریگونلین دانه ۱۱۸
۴-۲-۱۴- میزان دیاسژنین دانه ۱۲۱
۴-۲-۱۵- تنفس خاک ۱۲۳
۴-۳- تعیین کیفیت بیوچار تهیه‌شده - آزمایش گلخانه‌ای ۱۲۵
۴-۳-۱- ارتفاع گیاه ۱۲۶
۴-۳-۲- تعداد غلاف در بوته ۱۲۷

۴-۳-۳- طول غلاف ۱۲۹
۴-۳-۴- تعداد دانه در غلاف ۱۳۱
۴-۳-۵- وزن صد دانه ۱۳۲
۴-۳-۶- وزن خشک بوته ۱۳۳
۴-۳-۷- میانگین وزن دانه در بوته ۱۳۷
۴-۴- نتیجه‌گیری ۱۴۱
۴-۵- پیشنهادات ۱۴۲
منابع ۱۴۳

فهرست شکل ها

شکل ۲-۱. ساختار مولکولی تریگونلین ۱۴
شکل ۲-۲. ساختار مولکولی دیاسژنین ۱۵
شکل ۲-۳. الگویی تصوری از مفهوم تنش ۱۸
شکل ۲-۴. محصولات حاصل از گرماکافت زیست توده ۲۹
شکل ۲-۵. اهداف کلی تولید و مصرف بیوچار ۳۲
شکل ۲-۶. تاثیر بیوچار بر خصوصیات خاک ۳۴
شکل ۳-۱. آزمایش گلخانه‌ای ۴۸
شکل ۳-۲. مراحل آماده‌سازی تا رسیدگی ۵۰
شکل ۳-۳. تهیه بیوچار ۵۱
شکل ۳-۴. منحنی کالیبراسیون و کروماتوگرام‌های به دست آمده از غلظت های مختلف استاندارد تریگونلین ۶۱
شکل ۴-۱. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۶۸

شکل ۴-۲. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته در اکوتیپ‌های مخلتف ۷۰
شکل ۴-۳. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر بیوچار ۷۱
شکل ۴-۴. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر آبیاری ۷۱
شکل ۴-۵. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف در اکوتیپ‌های مختلف ۷۲
شکل ۴-۶. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر بیوچار ۷۳
شکل ۴-۷. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر آبیاری ۷۳
شکل ۴-۸. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۷۴
شکل ۴-۹. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۷۵
شکل ۴-۱۰. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۷۶
شکل ۴-۱۱. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۷۶
شکل ۴-۱۲. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تأثیر اکوتیپ و بیوچار ۷۶
شکل ۴-۱۳. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۷۷
شکل ۴-۱۴. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۷۸
شکل ۴-۱۵. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۷۹
شکل ۴-۱۶. میانگین وزن دانه در بوته تحت تأثیر اکوتیپ و بیوچار ۷۹
شکل ۴-۱۷. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۸۰
شکل ۴-۱۸. مقایسه میانگین میزان کلروفیل کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری ۸۱
شکل ۴-۱۹. مقایسه میانگین میزان آنزیم کاتالاز تحت تاثیر آبیاری ۸۲
شکل ۴-۲۰. مقایسه میانگین میزان آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر آبیاری ۸۲
شکل ۴-۲۱. مقایسه میانگین میزان پروتئین کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری ۸۳

شکل ۴-۲۲. مقایسه میانگین میزان قند کل اکوتیپ های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم های مختلف آبیاری ۸۴
شکل ۴-۲۳. مقایسه میانگین میزان تریگونلین بذر اکوتیپ های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم های مختلف آبیاری ۸۶
شکل ۴-۲۴. مقایسه میانگین میزان دیاسژنین بذر تحت تاثیر بیوچار ۸۶
شکل ۴-۲۵. مقایسه میانگین تنفس خاک تحت تاثیر بیوچار ۸۷
شکل ۴-۲۶. مقایسه میانگین تنفس خاک تحت تاثیر آبیاری ۸۷
شکل ۴-۲۷. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری ۸۸
شکل ۴-۲۸. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر بیوچار ۹۲
شکل ۴-۲۹. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر آبیاری ۹۲
شکل ۴-۳۰. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته در اکوتیپ‌های مختلف ۹۳
شکل ۴-۳۱. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف در اکوتیپ‌های مختلف ۹۶
شکل ۴-۳۲. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر بیوچار ۹۶
شکل ۴-۳۳. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر آبیاری ۹۶
شکل ۴-۳۴. مقایسه میانگین وزن صد دانه در بوته تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۹۹
شکل ۴-۳۵. مقایسه میانگین وزن صد دانه در بوته تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۹۹
شکل ۴-۳۶. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۱۰۱
شکل ۴-۳۷. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۱۰۱
شکل ۴-۳۸. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۱۰۲
شکل ۴-۳۹. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۱۰۳
شکل ۴-۴۰. مقایسه میانگین عملکرد دانه تحت تأثیر آبیاری و بیوچار ۱۰۵
شکل ۴-۴۱. مقایسه میانگین عملکرد دانه تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۱۰۵

شکل ۴-۴۲. مقایسه میانگین میزان کلروفیل کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری ۱۱۱
شکل ۴-۴۳. مقایسه میزان آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر آبیاری ۱۱۲
شکل ۴-۴۴. مقایسه میزان آنزیم کاتالاز تحت تاثیر آبیاری ۱۱۳
شکل ۴-۴۵. مقایسه میزان پروتئین کل بذر تحت تاثیر آبیاری ۱۱۵
شکل ۴-۴۶. مقایسه میانگین میزان تریگونلین تحت تأثیر اکوتیپ و آبیاری ۱۱۸
شکل ۴-۴۷. مقایسه میانگین میزان دیاسژنین در اکوتیپ‌های مختلف ۱۲۱
شکل ۴-۴۸. مقایسه میزان تنفس خاک تحت تاثیر بیوچار ۱۲۳
شکل ۴-۴۹. مقایسه میزان تنفس خاک تحت تاثیر آبیاری ۱۲۴
شکل ۴-۵۰. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تأثیر آبیاری ۱۲۶
شکل ۴-۵۱. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تأثیر بیوچار ۱۲۶
شکل ۴-۵۲. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر آبیاری ۱۲۸
شکل ۴-۵۳. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر بیوچار ۱۲۸
شکل ۴-۵۴. مقایسه میانگین طول غلاف تحت تأثیر بیوچار ۱۳۰
شکل ۴-۵۵. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر بیوچار ۱۳۱
شکل ۴-۵۶. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تأثیر آبیاری ۱۳۳
شکل ۴-۵۷. مقایسه میانگین وزن خشک بوته تحت تأثیر آبیاری ۱۳۴
شکل ۴-۵۸. مقایسه میانگین وزن خشک بوته تحت تأثیر بیوچار ۱۳۴
شکل ۴-۵۹. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تأثیر آبیاری ۱۳۷
شکل ۴-۶۰. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تأثیر بیوچار ۱۳۷

فهرست جداول

جدول ۳-۱- شرایط آب و هوایی محل اجرای طرح ۴۶

جدول ۳-۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد استفاده ۴۷

جدول ۳-۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیوچار مورد استفاده ۵۱

جدول ۴-۱. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط گلخانه ۶۹

جدول ۴-۲. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط مزرعه ۸۹

جدول ۴-۳. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در آزمایش بررسی کیفیت بیوچـار ۱۲۵

فصل اول

مقدمه

مقدمه

گرایش عمومی جوامع به طب سنتی و استفاده از داروهای گیاهی در طی سال‌های اخیر و همچنین نیاز مبرم به مواد مؤثره‌ی گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی باعث شده است تا این گیاهان بیش از پیش از ارزش و اهمیت خاصی برخوردار گردند. یکی از گیاهان دارویی که سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی متعددی برای آن ذکرشده گیاه شنبلیله است. شنبلیله گیاهی یک ساله و متعلق به خانواده Fabaceae می‌باشد. از دیرباز برگ‌ها و بذرهای این گیاه به‌طور گسترده‌ای در سراسر جهان با اهداف دارویی متفاوتی نظیر ضد دیابت، پایین‌آورنده قند و کلسترول خون، ضد سرطان، ضد باکتریال و غیره مورد استفاده قرار می گرفته است. بذر این گیاه منبع تولید تجاری مهمی از متابولیت‌های با ارزشی نظیر تریگونلین[1] و دیاسژنین[2] می‌باشد. در بسیاری از لگوم‌ها تریگونلین به عنوان متابولیت ثانویه از Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD) تولید می‌شود. محققان برای این متابولیت ثانویه نقش‌های فیزیولوژیکی متفاوتی در گیاه از قبیل فاکتور فعال در حرکت برگ‌ها، ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی و عامل حفظ فشار تورژسانس گزارش کرده‌اند. تریگونلین استخراج شده از شنبلیله اثرات ضد دیابتی مؤثری در درمان بیماران دیابتی از خود نشان داده است (اکبری و همکاران، ۱۳۹۱).

شنبلیله دارای قدمت بسیار طولانی کشت در ایران می باشد و توده های متنوع و ارزشمندی از این گیاه در کشور وجود دارد. کم آبی به عنوان یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده ی رشد گیاهان و تولید، یکی از عوامل مهم محدود کننده ی کشت شنبلیله در ایران می باشد. در حال حاضر هیچ راه منطقی برای افزایش نزولات جوی در طول دوره های خشکی وجود ندارد، لذا بهترین راه مقابله با خشکی به کارگیری عملیات زراعی مناسب و استفاده از ارقامی است که تحمل بیشتری به خشکی داشته باشند (احمدی و جاویدفر، ۱۳۷۹). یکی از عملیات زراعی مورد نظر محققان کشاورزی

---

[1] Trigonelline
[2] Diosgenin

افزودن ترکیباتی به خاک است که به‌عنوان جاذب رطوبت عمل کرده و راندمان آب خاک را افزایش می‌دهند. موادی که ضمن افزایش کارایی مصرف آب، به خاک و محیط‌زیست هم آسیبی وارد ننمایند. یکی از این ترکیبات که اخیرا در سطح جهانی مورد توجه قرار گرفته است بیوچار می باشد.

بیوچار[1] ذغال تهیه شده از زیست‌توده‌های گیاهی و ضایعات کشاورزی است که از سوختن آنها در حضور مقادیر کم و یا عدم حضور اکسیژن حاصل می گردد. این ترکیب دارای فواید متعددی شامل افزایش ظرفیت نگهداری آب خاک، ترسیب کربن، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) خاک، افزایش حاصلخیزی خاک، افزایش رشد گیاه و توسعه ریشه، بهبود ساختار و افزایش پایداری خاک، و تعدیل pH خاک می باشد. از این رو استفاده از بیوچار در اراضی کشاورزی به دلیل افزایش ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت تبادل کاتیونی خاک می‌تواند نقش مؤثری در کاهش مصرف آب و عناصر غذایی خاک داشته باشد. این ماده به علت سرعت تجزیه بسیار کند نسبت به سایر مواد آلی می‌تواند کربن را برای دوره‌های طولانی در خاک ذخیره کند (لهمان و همکاران، ۲۰۰۶). خصوصیات بیوچار بسته به ماده ی اولیه و تکنولوژی کاربردی در تولید آن متفاوت خواهد بود به عبارتی به دلیل ترکیب متفاوت عناصر در مواد اولیه متفاوت و به دنبال آن پاسخ های متفاوت طی فرآیند تجزیه حرارتی دامنه ای از بیوچارها با خصوصیات متفاوت ایجاد می شود. بنابراین با انتخاب منبع صحیح بیوچار و میزان مناسب مورد استفاده می توان ظرفیت نگهداری آب و عناصر غذایی در خاک را به راحتی در کنار سایر مزایای بیوچار افزایش داد.

در سال ۲۰۰۶ بر اساس میزان تولید شالیزارها، میزان ضایعات حاصل از تولید برنج در آسیا تقریبا ۶۲۳ میلیون تن کاه و کلش برنج و ۱۲۵ میلیون تن سبوس برنج با شاخص برداشت ۰/۵ و نسبت پوسته به برنج ۰/۲ تخمین زده شد (منبع داده‌های فائو، ۲۰۰۶). این در حالی است که استفاده از این بقایای کشاورزی به منظور تولید بیوچار نه تنها منجر به بهبود کیفیت خاک می گردد بلکه به عنوان روشی هوشمندانه جهت بازیافت مواد آلی و کاهش انتشار دی اکسید کربن نیز می باشد

[1] Biochar

(سوهی و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به این که برنج یکی از محصولات مهم و استراتژیک در ایران می‌باشد بنابراین بقایای حاصل از آن می تواند گزینه ی مناسبی برای تولید بیوچار باشد.

ایران علاوه بر خشک بودن، کشوری مستعد خشکسالی است و میزان خسارت خشکسالی به علت کاهش سرانه آب قابل‌دسترس ناشی از افزایش جمعیت، تغییر اقلیم، بهره‌برداری بیش از حد و کاهش کیفی منابع آب موجود در حال افزایش است. کارایی مصرف آب در کشاورزی تا حد زیادی به مدیریت محصول و عناصر غذایی وابسته است (هاتفیلد و همکاران، ۲۰۰۱). بسته به نوع محصول، در کشاورزی دیم کارایی مصرف آب بین ۰/۲۵ تا ۱/۵ کیلوگرم در متر مکعب می باشد در حالی که در کشاورزی آبی این مقدار بین ۰/۵ تا ۱/۷ کیلوگرم در متر مکعب است (دانگ و همکاران، ۲۰۰۶). اگر همچنان تقاضای فزاینده ای برای غذا و سوخت وجود داشته باشد لازم است کارایی مصرف آب در هر دو کشاورزی آبی و دیم به طور پایداری افزایش یابد (اوکی و کانائه، ۲۰۰۶). بنابراین افزودن بیوچار به خاک می تواند گزینه ی مناسبی برای مشکل کم آبی در ایران در نظر گرفته شود، ترکیبی که ضمن افزایش کارایی مصرف آب و کاهش تلفات آن، به خاک و محیط زیست هم آسیبی وارد نمی نماید.

۱-۱- شنبلیله

گیاهان دارویی در طول تاریخ همواره قرابت خاصی با انسان داشته‌اند و ایرانیان از دیرباز و حتی پیش از دیگران در زمینه شناخت گیاهان دارویی و کاربرد درمانی آنها از دانش پیشرفته‌ای برخوردار بوده‌اند. یکی از گیاهان دارویی که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری برای آن ذکرشده گیاه شنبلیله است (صالحی سورماقی، ۲۰۰۸). شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-graceum* L. یک گیاه علفی یک‌ساله از خانواده Fabaceae است که بومی شرق مدیترانه است. بذر و قسمت‌های هوایی گیاه قرن‌ها به‌عنوان منبع ارزشمندی از پروتئین در تغذیه انسان و دام، همچنین در طب سنتی نیز تقریباً به همان قدمت، برای درمان کورک، دیابت سلولیتیس و سل مورد مصرف بوده است (قنادی، ۲۰۰۵). گیاه شنبلیله از دیرباز نقش گسترده‌ای را

در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها بر عهده داشته است. در طب سنتی مصارف زیادی برای این گیاه ذکر شده است، از این گیاه برای تسهیل زایمان، کمک به هضم غذا و افزایش سوخت‌وساز و تقویت عمومی در بدن استفاده می شده است. این گیاه به سبب تولید آلکالوئیدهای دارویی، ترکیبات استرویید‌ی، ساپوژنین‌ها و قدرت درمان‌بخشی بالا در زمره‌ی مهم‌ترین گیاهان دارویی جهان قرار دارد. تریگونلین اسید نیکوتینیک از جمله مهم‌ترین متابولیت‌های گیاه شنبلیله به شمار می‌رود که در درمان دیابت و کاهش کلسترول خون بسیار مؤثر می‌باشد. دیاسژنین ترکیب مهم دیگر بذر این گیاه است که در تولید استرویید‌های دارویی از جمله قرص‌های ضدبارداری استفاده می‌شود. مطالعات زیادی بر روی اثرات درمانی و شناسایی ترکیبات شیمیایی این گیاه صورت گرفته است. تحقیقات انجام‌شده نیز بر بسیاری از این کاربردهای سنتی صحه نهاده و ارزش درمانی این گیاه و قابلیت‌های طب سنتی را به روشنی نشان داده است (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). شنبلیله دارای قدمت بسیار طولانی کشت در ایران می‌باشد (نجف پور نوایی، ۱۳۷۳). به دلیل قدمت زیاد کشت و کار در ایران توده‌های متنوع و ارزشمندی از این گیاه در کشور وجود دارد. توده‌های بومی به دلیل سازشی که در طی زمان کسب نموده‌اند، دارای ژن‌های مطلوبی نظیر ژن مقاومت به خشکی، شوری و مقاومت به آفات و بیماری‌ها شده‌اند (محمدی و همکاران، ۱۳۸۶). همچنین شنبلیله در تثبیت ازت نقش عمده‌ای دارد، بنابراین مناسب برای کشت متناوب است (نجف پور نوایی، ۱۳۷۳).

۱-۲- خشکی

متخصصین علوم کشاورزی برای جوامع ساکن در مناطق خشک و نیمه‌خشک، نیازمند تغییر نگرش علمی خود درباره‌ی مفهوم توسعه و به‌کارگیری سیستم‌های پیشرفته‌ی فن‌آوری کشاورزی، مصرف بهینه‌ی آب و انرژی، حفظ زیست‌بوم و منظرسازی می‌باشند. در مناطق خشک و نیمه‌خشک، به‌کارگیری فن‌آوری‌های نو می‌تواند موجب افزایش مؤثر بازده مصرف آب و پیشگیری از انباشت املاح در ناحیه‌ی رشد ریشه شده و عملکرد بیشتری را به ارمغان بیاورد. یکی از عملیات زراعی موردنظر

محققان کشاورزی به منظور مقابله با خشکی افزودن ترکیباتی بـه خـاک اسـت کـه بـه‌عنـوان جـاذب رطوبت عمل کرده و راندمان آب خاک را افزایش می‌دهند. موادی که ضمن افزایش کارایی مصـرف آب و کاهش تلفات آن، به خاک و محیط‌زیست هم آسیبی وارد ننمایند.

۱-۳- بیوچار

واژه‌ی بیوچار مربوط به پیشرفتی نسبتاً جدید است که در ارتباط با مسائل مربوط به مـدیریت خاک و ترسیب کربن[1] پدیدار شده است (لهمان و همکاران، ۲۰۰۶). به عبارت ساده، بیوچار محصـولی غنی از کربن است که از حرارت دیدن زیست‌توده‌هایی نظیر چوب، کود دامی یا برگ، در یـک محفظـه دربسته، بدون هوای در دسترس یا حاوی مقادیر کم آن حاصل می‌گردد. به لحاظ تخصصی‌تـر، بیوچـار به اصطلاح از تجزیه حرارتی[2] مواد آلی تحت منابع محدود اکسـیژن (O_2) و در دماهـای نسـبتاً پـایین (کمتر از ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد) حاصل می‌گردد. این فرآینـد اغلـب تولیـد ذغـال چـوب کـه یکـی از قدیمی‌ترین تکنولوژی‌های صنعتی توسعه‌یافته توسط انسان است را منعکس می‌کند (هـریس، ۱۹۹۹). اگرچه بیوچار با این حقیقت که با هدف کاربرد در خاک به‌عنوان ابزاری برای بهبـود بهـره‌وری خـاک، ذخیره‌سازی کربن (C)، تصفیه آب خاک تولید می‌گردد، از ذغال چوب و مواد مشابه متمایز مـی‌گـردد. در مقابل بیوچار غنی از کربن آلی، سوختن[3] زیست‌توده در آتش تولیـد خاکسـتر مـی‌کنـد کـه عمـدتا شامل عناصـری نظیـر کلسـیم (Ca) یـا منیـزیم (Mg) و کربنـات‌هـای غیرآلـی مـی‌باشـد. در بیشـتر آتش‌سوزی‌ها، تنها بخش کوچکی از پوشش گیاهی در مناطقی با منابع اکسیژن محدود به‌طـور نـاقص می‌سوزد و به‌صورت ذغال باقی می‌ماند (کولباس و کراتزن، ۱۹۹۵).

چهـار هـدف مکمـل و اغلـب تشـدیدکننده ممکـن اسـت در کـاربرد بیوچـار بـرای مـدیریت زیست‌محیطی مدنظر باشد که عبارتند از: بهبود خاک (به جهت بهبـود بهـره‌وری و همچنـین کـاهش

[1] C sequestration
[2] Thermal decomposition
[3] Burn

آلودگی)؛ مدیریت باقی‌مانده‌های گیاهی؛ کاهش تغییرات اقلیمی و تولید انرژی، که باید به‌تنهایی یا در ترکیب با هم دارای یک سود مالی یا اجتماعی و یا هر دو آنها باشند. که در نتیجه‌ی آن سیستم‌های بیوچاری بسیار متفاوتی در مقیاس‌های مختلف پدید می‌آیند. همچنین اهداف کاربرد بیوچار در خاک به‌طور عمده در چهار گروه وسیع قرار می‌گیرند: سودآوری در کشاورزی؛ مدیریت خطر اتروفیکاسیون و آلودگی محیط‌زیست؛ احیاء زمین‌های تخریب‌شده؛ و ترسیب کربن از اتمسفر.

اخیرا خواسته شده است که مدیریت پایدار خاک "انقلاب سبز مضاعفی[1]" که شامل تکنولوژی‌های حفاظتی باشد، ایجاد کند (کانوی، ۱۹۹۹). با توجه به نقش بیوچار به‌عنوان یک اصلاح‌کننده‌ی خاک، بیوچار می‌تواند فرصت‌های بسیاری برای تبدیل انقلاب سبز به عملیات اگرواکوسیستم‌های پایدار فراهم کند. بازگشت‌های خوب از هر نهاده‌ی گرانی مانند کودها، به سطوح مناسبی از مواد آلی خاک بستگی دارد که می‌تواند با مدیریت بیوچار در خاک در طولانی‌مدت تضمین گردد (کیمتو و همکاران، ۲۰۰۸). بیوچار فرصت منحصربه‌فردی برای بهبود حاصلخیزی خاک و راندمان استفاده از عناصر غذایی با استفاده از مواد تجدیدپذیر و موجود در سطح محلی به روشی پایدار را فراهم می‌کند. بیوچار قادر است نقش عمده‌ای در افزایش گزینه‌ها در مدیریت پایدار خاک از طریق بهبود بر اساس بهترین شیوه‌های مدیریتی موجود، نه‌تنها برای بهبود بهره‌وری خاک بلکه همچنین برای کاهش اثرات زیست‌محیطی بر منابع آب و خاک، بازی کند.

با توجه به مطالب ذکرشده تحقیق حاضر به ارزیابی پاسخ اکوتیپ‌های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد بیوچار به عنوان یک اصلاح‌کننده‌ی خاک به جهت توسعه کشت شنبلیله در کشور می‌پردازد. لذا چنانچه بتوان اکوتیپ‌هایی را معرفی نمود که در این شرایط کم آبیاری و کاربرد بیوچار، عملکرد و مواد موثره‌ی قابل قبولی تولید نمایند می‌توان به راحتی به سطح زیر کشت شنبلیله در کشور اضافه نمود که با توجه به کاربردها، قابلیت‌ها و ارزش درمانی این گیاه این موضوع می‌تواند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد.

---

[1] Doubly Green Revolution

۱-۴- اهداف تحقیق

۱- بررسی تأثیر بیوچار بر تحمل به خشکی در اکوتیپ‌های شنبلیله؛

۲- بررسی تأثیر بیوچار بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، و زراعی در اکوتیپ‌های شنبلیله؛

۳- انتخاب اکوتیپ‌های شنبلیله‌ی متحمل به تنش کم‌آبی که از ثبات عملکرد بالا و قابل قبولی برخوردارند؛

۴- تاثیر بیوچار بر ترکیبات دارویی بذر شنبلیله؛ و

۵- مقایسه کیفی بیوچار تهیه شده با بیوچارهای تهیه شده بر طبق استانداردهای جهانی.

فصل دوم

کلیات و بررسی منابع

۲-۱- خصوصیات گیاه‌شناسی شنبلیله

شنبلیله یا شنبلید با نام علمی *Trigonella foenum-graceum L.* گیاهی نهاندانه، از دولپه‌ای‌های جدا گلبرگ است که جزء زیر راسته گل سرخ[1]، تیره باقلائیان[2] و جنس *Trigonella* L. از گروه Trifolia است. نام این گیاه از کلمه یونانی Trigonou به معنای مثلث، به دلیل مثلثی بودن شکل برگچه‌ها و "*foenum-graecum*" به معنای "Greek hay" یا علف یونانی به دلیل کاربردهای فراوان آن در یونان باستان، گرفته شده است (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹).

شنبلیله گیاهی است علفی و یک‌ساله که ارتفاع آن تا ۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. ساقه به‌صورت منفرد غالبا خوابیده، با انشعابات کم، بدون کرک یا کرک‌های پراکنده است. برگ‌ها متناوب، سه برگچه‌ای، بیضی‌شکل و دندانه‌دار بوده و برگچه‌ها از یک نقطه منشعب می‌شوند. گل‌هایی منفرد به رنگ زرد روشن، بنفش یا مایل به سفید به بزرگی ۱/۸-۰/۸ سانتی‌متر داشته و خودگرده‌افشان است ولی گاهی نیز گرده‌افشانی توسط حشرات انجام می‌شود. میوه آن نیام، خمیده، به طول ۳ تا ۱۱ سانتی‌متر و محتوی ۵ تا ۲۰ دانه زاویه‌دار به طول ۴ تا ۶ میلی‌متر و به عرض ۲ تا ۳ میلی‌متر است. رنگ آن از زرد حنایی تا قهوه‌ای تغییر می‌نماید. این گیاه دارای طعم و اسانس معطر می‌باشد.

۲-۲- منشأ و پراکنش

منشأ این گیاه نواحی آفریقای شمالی و سواحل شرقی مدیترانه است. طبق نظر برخی از محققین این گیاه در آغاز بومی ایران بوده و سپس به دیگر مناطق منتقل شده است. شنبلیله به‌طور گسترده‌ای در هند، چین، آفریقا، الجزیره، عربستان سعودی، پاکستان، مصر، ترکیه، اوکراین، اسپانیا و ایتالیا کاشته

[1] Rosidae
[2] Fabaceae

می‌شود. بیشترین صادرات این گیاه از کشورهای هند، مراکش، چین و ترکیه صورت می‌گیرد. بیش از ۲۰۷ اکوتیپ وحشی و زراعی شنبلیله در دنیا شناسایی شده و بر اساس فلور ایرانیکا پراکنش بیش از ۳۲ گونه از این گیاه در بسیاری از نقاط ایران از جمله اصفهان، فارس، خراسان، سمنان، دامغان و نیز مناطق مرکزی گزارش شده است (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). ژنوتیپ‌های مختلف شنبلیله دارای تفاوت‌های مورفولوژیکی، عادت رشدی و میزان تولید بیوماس، بذر و مواد مؤثره می‌باشند (تیلور و همکاران، ۲۰۰۰).

۲-۳-کاشت

این گیاه در طول رویش به هوای گرم نیاز دارد. اگر چه در خاک‌های شنی و فقیر می‌روید ولی برای کشت انبوه این گیاه باید از خاک‌های آهکی و غنی از مواد و عناصر غذایی استفاده کرد. تکثیر گیاه از طریق بذر انجام می‌شود. کشت شنبلیله در اکثر نقاط جهان به‌صورت بهاره انجام می‌شود اما در مناطق معتدل در دو فصل بهار و پاییز کاشت قابل انجام می‌باشد. در کشت بهاره در فصل پاییز در هنگام آماده ساختن خاک ۴۰ تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار اکسید فسفر و ۴۰ تا ۸۰ کیلوگرم در هکتار اکسید پتاس به‌عنوان مقادیر پایه به خاک اضافه می‌شود. سپس شخم متوسطی زده می‌شود. اواخر زمستان بستر خاک را برای کشت شنبلیله باید آماده کرد. چنانچه زمین از نیتروژن تهی باشد توصیه می‌شود در فصل بهار نیتروژن به‌صورت سرک در اختیار گیاهان قرار گیرد. اواخر فروردین زمان مناسبی برای کشت مستقیم بذر در زمین است. بذرهای شنبلیله را به‌صورت ردیفی و یا با استفاده از ردیف‌کار غلات در ردیف‌هایی به فاصله خطوط ۲۵ تا ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر و عمق ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر کشت می‌کنند. پس از کاشت زمین را باید به اندازه کافی آبیاری کرد تا شرایط برای جوانه‌زنی آماده گردد. مقدار بذر موردنیاز جهت کشت ۲۰ تا ۲۵ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. از آنجایی‌که شنبلیله در تثبیت نیتروژن

نقش عمده‌ای دارد؛ ازاین‌رو توصیه می‌شود پس از برداشت شنبلیله گیاهانی که نیاز به نیتروژن وافری دارند در اراضی موردنظر کشت شوند (نجف‌پور نوایی، ۱۳۷۳).

۲-۴- داشت

آب کافی نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد دانه دارد. ۳۰ تا ۳۷ روز پس از سبز شدن بذرها، گل‌ها ظاهر می‌شوند و در حدود ۷ تا ۱۸ روز گل‌ها روی گیاه باقی می‌مانند. میوه‌ها ۶۰ تا ۹۰ روز پس از سبز شدن بذر می‌رسند (امیدبیگی، ۱۳۸۵). رشد اولیه شنبلیله بسیار کند است. ازاین‌رو پس از سبز شدن چند بار باید اقدام به وجین مکانیکی علف‌های هرز نمود. در طول رویش شنبلیله بیماری‌های قارچی ممکن است صدمه‌های زیادی به گیاه وارد کنند. مهم‌ترین این بیماری‌ها عبارتند از: قارچ عامل سفیدک سطحی یا پودری که باعث بروز لکه‌های سفید رنگ و کرکی در سطح ساقه و برگ می‌شود. در اواخر فصل با فاسد کردن سلول‌ها ایجاد لکه‌های قهوه‌ای می‌کند. برای مبارزه با این قارچ می‌توان از قارچ‌کش‌های گوگرددار استفاده نمود. قارچ عامل بوته میری از دیگر بیماری‌هایی است که سبب خشک شدن گیاهان می‌شود. با تناوب کشت صحیح، ضدعفونی کردن برگ‌ها قبل از کاشت و خارج کردن و سوزاندن بقایای گیاهان آلوده از زمین این بیماری‌ها را می‌توان کنترل نمود (نجف‌پور نوایی، ۱۳۷۳).

۲-۵- برداشت

شنبلیله گیاهی چندمنظوره می‌باشد و دوره رشد شنبلیله ۴ تا ۷ ماه به طول می‌انجامد (پتروپلوس، ۲۰۰۲). اگر هدف استفاده از برگ باشد؛ ۴ تا ۵ هفته بعد از کشت از فاصله ۲ تا ۳ سانتی‌متری بالای خاک گیاه را قطع می‌کنند و گیاه دوباره رویش کرده و محصول جدید تولید می‌کند و این کار به‌طورمعمول ۱۲ تا ۲۰ روز طول می‌کشد. به‌طورمعمول پس از ۲ تا ۳ چین برگ، گیاه را برای

بذرگیری رها می‌کنند یا بعد از ۴ تا ۵ چین گیاه را از ریشه درمی‌آورند. عملکرد خشک گیاه ۵۰۰ تا ۳۵۰۰ کیلوگرم در هکتار است (نجف‌پور نوایی، ۱۳۷۳). دانه معمولاً چهار تا پنج هفته بعد پس از گلدهی آماده برداشت می‌شود. فصل تابستان زمان مناسبی برای برداشت دانه شنبلیله است. تأخیر در برداشت سبب ریزش دانه می‌شود. برداشت دانه در روزهای گرم و خشک توصیه می‌شود. پس از برداشت؛ دانه‌ها بوجاری، تمیز و بسته‌بندی می‌گردند (مظفریان، ۱۳۷۵).

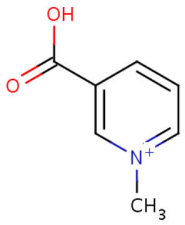
۲-۶- شیمی گیاه

هر صد گرم برگ حاوی ۳۵ کالری، ۶/۴ گرم پروتئین، ۲/۶ گرم کربوهیدرات و۰/۲گرم چربی است. بذر شنبلیله محتوی ۶۰-۴۵٪ کربوهیدرات (عمدتاً فیبرهای موسیلاژی نظیر گالاکتومانانان)، ۲۰-۳۰٪ پروتئین با نسبت بالای لیزین و تریپتوفان، ۵-۱۰٪ روغن‌های تثبیت‌شده (لیپید)، آلکالوئیدهای پیریدین (عمدتاً تریگونلین۰/۲-۰/۳۸٪، کولین۰/۵٪)، جنتانین و کارپاین، فلاونوئیدهای آپی جنین، لوتئین، اورنتین، کوئرسین، تیکسین، ایزوتیکسین، آمینواسیدهای آزاد همچون ۴-هیدروکسی ایزولوسین (۰/۰۹٪)، آرژنین، هیستیدین و لیزین، کلسیم و آهن، ساپونین (۰/۶-۱/۷٪)، گلیکوزیدهای ساپونین‌ها (دیاسژنین، یاموژنین، تیگوژنین و نئوتیگوژنین)، کلسترول و سیتواسترول و ویتامین A, B, C و نیکوتنیک اسید و ۰/۰۱۵٪ روغن‌های فرار (ان-آلکان‌ها و سسکوئی‌ترپن‌ها) است (مهرآفرین و همکاران، ۱۳۹۰).

این گیاه به سبب تولید آلکالوئیدهای دارویی، ترکیبات استرویدی، ساپوژنین‌ها و قدرت درمان‌بخشی بالا در زمره‌ی مهم‌ترین گیاهان دارویی جهان قرار دارد. مهم‌ترین ساپوژنین‌های استروئیدی که غلظت ۰/۲ تا ۱/۲ درصد دارند شامل دیاسژنین و یاموژنین می‌باشد (آنیس و همکاران، ۱۹۸۵). آلکالوئید شاخص این گیاه تریگونلین می‌باشد که تا غلظت ۰/۳۶ درصد استخراج شده است (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). قسمت مورد مصرف شنبلیله از نظر دارویی، دانه‌های آن است (ریاست، ۱۳۸۰).

۲-۶-۱- تریگونلین

امروزه آلکالوئید دارویی تریگونلین در تعداد زیادی از گیاهان شناسایی شده و در بعضی از خانواده‌های گیاهی مانند Lamiaceae، Asteraceae و Fabaceae و به ویژه در دانه‌های گونه‌های گیاهی جنس قهوه به مقدار زیادی یافت می‌شود. تریگونلین دارای فرمول شیمیایی $C_7H_7NO_2$، وزن مولکولی ۱۳۷/۱۴، در آب محلول و نقطه ذوب ۲۱۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (شکل ۲-۱). تریگونلین برای نخستین بار از گیاه شنبلیله استخراج شد و تاکنون در گیاهان مختلف و چندین گونه حیوانی نظیر توتیا (خار دریایی) و ستاره دریایی و نیز در ادرار پستانداران بعد از استفاده از اسید نیکوتنیک مشاهده شده است (مهرآفرین و همکاران، ۱۳۹۰).



شکل ۲-۱. ساختار مولکولی تریگونلین

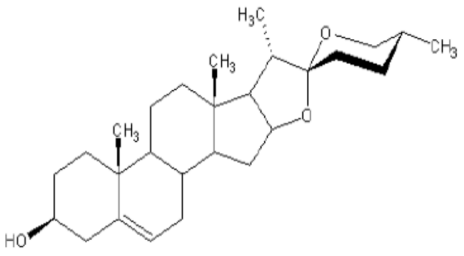
اسید نیکوتنیک، پیش ماده اصلی و اولیه بیوسنتز تریگونلین در گیاهان است و از سوی دیگر خود محصول تجزیه نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتید (NAD) می‌باشد. تریگونلین توسط آنزیم اس- آدنوزیل- ال -متیونین[1] متعلق به ان- متیل ترانسفراز نیکوتینات[2] ساخته می‌شود. با وجود این که تریگونلین در پریکارپ میوه بیشتر از بذر ساخته می‌شود اما مقدار آن در بذر فراوان‌تر است که نشان می‌دهد مقداری از تریگونلین ساخته‌شده در پریکارپ به بذر منتقل می‌شود؛ اما در هنگام جوانه‌زنی به دلیل مصرف تریگونلین مقدار آن در بذر کاهش می‌یابد. در طی جوانه‌زنی، تریگونلین انباشته شده در بذرها به اسید نیکوتینیک

[1] S-adenosyl-L-methionine (SAM)
[2] Nicotinate Nmethyltransferase

تبدیل شده و برای ساخت NAD استفاده می‌شود. بنابراین، تریگونلین به‌عنوان مخـزن اسـید نیکوتنیـک در گیاهان عمل می‌کند. بخشی از اسید نیکوتنیک تشکیل‌شده از تریگـونلین در طـی مراحـل برگشـتی بعـدی تبدیل به دیگر متابولیت‌ها می‌شود. بالاترین میـزان تریگـونلین در طـی روزهـای آغـازی بعـد از جوانـه‌زنـی مشاهده شده است. تریگونلین می‌تواند کیفیت غذایی جوانه‌های سـویا و لـوپن را بهبـود دهـد (مهرآفـرین و همکاران، ۱۳۹۰).

۲-۶-۲- دیاسژنین

دیاسژنین یک ساپوژنین اسـتروئیدی متعلـق بـه گـروه تـری‌تـرپن‌هـا و یـک aglycon و dioscin می‌باشد (شکل ۲-۲). آنزیم مهم برای بیوسنتز این تری‌ترپنوئید ایزوپنتـل دی فسـفات ایزومـراز مـی‌باشـد. دیاسژنین پیش ماده برای سنتز شیمیایی داروهـای اسـتروئیدی مـی‌باشـد و همچنـین در صـنایع دارویـی به‌عنوان یک داروی فوق‌العاده باارزش و گرانبها به حساب می‌آید. این ماده ضـد بیمـاری‌هـای مهمـی ماننـد دیابت، کلسترول خون و سرطان می‌باشد. در برگ، ریشه و دانه‌های گیاه شنبلیله نیز به مقدار زیادی وجـود دارد که مقدار آن در برگ‌های ۴۵ روزه گیاه از تمام قسمت‌هـای گیـاه بیشـتر اسـت. ایـن مـاده بـه‌صـورت dioscin در گیاهان به‌ویـژه شـنبلیله وجـود دارد کـه آن را توسـط اسـیدهای آلـی هیـدرولیز کـرده و بـه دیاسژنین تبدیل می‌کنند (کمال شمس و احمدیان، ۱۳۹۲).



شکل ۲-۲. ساختار مولکولی دیاسژنین

متوسط مقدار دیاسژنین در اندام گیاه شنبلیله به مقدار ۵/۵۶ میلی‌گرم بر گـرم وزن خشـک اسـت اما بیشترین مقدار آن در ۴۵ روزگی در برگ به مقدار ۹/۵۶ میلی‌گرم بر گرم در وزن خشک، بـه دنبـال آن ساقه به مقدار ۶/۵۵ میلی‌گرم بر گرم، بـذر بـه مقـدار ۴/۳۰ میلـی‌گـرم بـر گـرم و در نهایـت ریشـه ۲/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهـد کـه بـرگ‌هـا بیشـترین مقـدار دیاسژنین را دارا و بهترین منبع دیاسژنین در صنایع دارویی می‌باشند (کمال شمس و احمدیان، ۱۳۹۲).

۲-۷- کاربردهای دارویی شنبلیله

این گیاه منبع ارزشمندی از پروتئین در تغذیه انسان و دام می‌باشد، همچنین در طـب سـنتی نیـز تقریبا به همان قدمت، برای درمان کورک، دیابت و سل مورد مصرف بوده است. نکته جالب‌توجـه در مـورد شنبلیله طیف وسیع اثرات درمانی آن می‌باشد به‌طوری‌که می‌توان به اثرات ضد درد، ضد آترواسکلروز، ضـد التهاب، ضد نفخ، ضد اسپاسـم، ضـد سـرطان، پـائین آورنـده قنـد خـون، ملـین، خلـط‌آور، کـاهش‌دهنـده کلسترول، چربی، فشار و تری‌گلیسرید خون، و افزایش شیر اشاره نمود (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹).

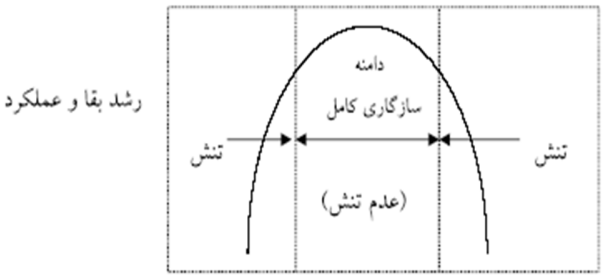
بنا به مکتوبات به‌جامانده از تمدن‌های کهن، گیاه شنبلیله از قدیمی‌ترین گیاهان دارویـی بـوده کـه در رم و مصر باستان جهت تسهیل زایمان و افزایش شیر مادران به کار می‌رفته است. در طـب سـنتی چـین نیز این گیاه جهت تقویت جسمی، بهبود ضعف و رفع ادم پا مورد استفاده بوده است. همچنین مردم مشـرق زمین در سال‌های دور از شنبلیله جهت متناسب نمودن اندام لاغر و نامتناسب خود استفاده می‌کرده‌انـد. در طب سنتی هند نیز این گیاه به‌عنوان تقویت‌کننده و نیز به‌عنوان محرک در افزایش شـیر مـادران همچنـین به‌عنوان یک ادویه پرمصرف به کار می‌رفته است (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۸- مفهوم تنش

تنش در نتیجه فرآیندهای غیرعادی فیزیولوژیک که از تأثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می‌شوند، به وجود می‌آید (حکمت شعار، ۱۳۷۲). هر عاملی که باعث شود گیاه، رفتار مطلوب فیزیولوژیکی نداشته باشد تنش ایجاد می‌کند (جونز و لوتز، ۱۹۹۳). در بیشتر موارد تنش در ارتباط با رشد (تجمع بیوماس) یا فرایندهای اولیه اسیمیلاسیون (جذب CO_2 و مواد معدنی) مرتبط با رشد کلی گیاه اندازه‌گیری می‌شود. چون تنش به‌تنهایی برحسب عکس‌العمل‌های گیاه تعریف می‌شود، بعضی مواقع فشار نامیده می‌شود که با اصطلاحات مهندسی مطابقت دارد. گیاهان تحت شرایط طبیعی و زراعی به طور پیوسته در معرض تنش هستند؛ اثر عوامل محیطی ممکن است روزها تا هفته‌ها (مانند رطوبت خاک) یا حتی ماه‌ها (مانند مواد معدنی) به طول بیانجامد (کافی و همکاران، ۱۳۸۲). تنش بلافاصله بعد از بروز، اثر خود را ایجاد نمی‌کند، زیرا گیاهان مکانیسم‌های حفاظتی را برای تأخیر یا متوقف کردن اختلالات شیمیایی و ترمودینامیکی داخل سلول به کار می‌برند (حکمت شعار، ۱۳۷۲). از آنجا که تنش باعث کاهش رشد و عملکرد می‌شود، تنش را می‌توان چنین تعریف نمود، شرایطی که سبب کاهش عملکرد از حداکثر موردنظر شود یا به عبارتی به هر عاملی که باعث شود گیاه به اندازه پتانسیل ژنتیکی خود رشد نکند اطلاق می‌گردد (لویت، ۱۹۸۰).

اغلب تفاوت بین واژه‌های تنش و عامل تنش نادیده گرفته می‌شود. درحالی‌که واژه تنش به معنی عارضه‌ای پیچیده است که به‌وسیله یک یا چند عامل تنش ایجاد می‌شود. تنش کم آبی عبارت است از هرگونه تنش محیطی که باعث کمبود آب در گیاه و در نتیجه اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه شود. خسارت ناشی از تنش تابع پتانسیل آب و آماس سلولی می‌باشد. در بسیاری از موارد تنش و خشکی دو پدیده همراه می‌باشد؛ اما در بعضی شرایط علیرغم وجود آب به اندازه کافی در اثر تبخیر زیاد و یا عدم جذب آب توسط ریشه در اثر دمای پایین خاک و یا زیادی املاح محلول در خاک و یا صدمات وارده به

ریشه، تنش وجود خواهد داشت. وابستگی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه مانند رشد، بقاء و عملکرد به عوامل محیطی (عامل‌های تنش مانند رطوبت) اصولا از یک منحنی پیروی می‌کنند (شکل ۲-۳).



شکل ۲-۳. الگویی تصوری از مفهوم تنش

۲- ۹- خشکی و تنش خشکی

از مجموع آب قابل برداشت از منابع آبی در ایران تاکنون ۷۴ درصد با ساخت سدها و شبکه‌ها برداشت شده که این میزان در جهان ۵۵ درصد است. همچنین در بخش کشاورزی ایران، تاکنون ۹۳ درصد آب مصرف شده است که این میزان در جهان ۵۵ درصد است. بر اساس شاخص‌های جهانی، کشوری که بیش از ۴۰ درصد منابع آبی تجدیدشونده خود را مصرف کند وارد مرحله تنش آبی شده است. متوسط بارندگی در ایران ۲۴۰ میلی‌متر و در جهان ۸۰۰ میلی‌متر و میزان متوسط تبخیر در کشور ۲۱۰۰ میلی‌متر و در جهان ۷۰۰ میلی‌متر است (سایت خبری ایرنا، ۱۳۹۶). طبق آخرین آمار وزارت جهاد کشاورزی، کل تولیدات محصولات کشاورزی ۶۵ میلیون تن است و برای تولید این میزان محصول حدود ۸۵ میلیارد مترمکعب آب مصرف می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کارآیی مصرف آب در ایران در حدود ۰/۷ کیلوگرم برای مصرف هر ۱۰۰۰ کیلوگرم آب است (سادات میرئی و فرشی، ۱۳۸۱).

از دیدگاه تایز و زایگر (۱۹۹۱) مناطق خشک و نیمه‌خشک مناطقی هستند که مجموع تعرق گیاهی، ۵۰ درصد تعرقی است که گیاه در وضعیت عدم محدودیت آب انجام می‌دهد. در چنین مناطقی،

آب عامل محدودکننده رشد گیاه به شمار می‌رود و به‌طور عمده تنش با استفاده از آبیاری (در صورت امکان) مرتفع می‌گردد. به عقیده بویر (۱۹۷۰) کمبود آب تنها محدود به اقلیم‌های خشک نیست، بلکه حتی در اقلیم‌های مرطوب نیز توزیع نامناسب بارندگی ممکن است منتهی به دوره‌هایی شود که محدودیت آب موجب رکود رشد گردد. در دیم‌زارها تغییراتی که از سالی به سال دیگر رخ می‌دهد، نشان‌دهنده عمق این معضل می‌باشد. اثرات خشکی به‌تدریج تجمع یافته، ممکن است در درازمدت بروز نماید (رفیعی و همکاران، ۱۳۸۲). خشکی مترادف با کمبود آب به حساب می‌آید و مربوط به مسأله عدم توازن عرضه و تقاضای گیاه در حصول آب می‌باشد. ولی باید گفت که توجه صرف به وضعیت جوی نمی‌تواند به‌عنوان یک ملاک کامل برای تعریف خشکی بکار رود. این امر حتی در صورت ملحوظ داشتن عواملی نظیر بارندگی، تأثیر پراکنش بارش، رطوبت، دما و میزان تبخیر نیز خالی از اشکال نمی‌باشد. زیرا عوامل بسیاری مانند خصوصیات خاک، ویژگی‌های گیاه زراعی و اعمال مدیریت‌های مختلف، در جذب آب در گیاهان مختلف دخالت تام دارند.

خشکی را می‌توان بسته به منبع آب در دسترس به سه رده کلی تقسیم نمود:

- خشکی جو[1]: بیان‌گر کمبود باران در مقایسه با بارندگی معمول در یک منطقه معین می‌باشد. از لحاظ هواشناسی، خشکی به یک دوره بدون بارندگی اطلاق می‌شود که بر سه عامل ظرفیت رطوبتی خاک، تقاضای اتمسفری تبخیر و کارایی گیاه تأثیر می‌گذارد (جونز و لوتز، ۱۹۹۳).
- خشکی هیدرولوژیکی[2]: بیان‌گر کمبود آب در سطح زمین و منابع زیرزمینی می‌باشد.
- خشکی کشاورزی[3]: بیان‌گر وضعیتی است که در آن، میزان بارندگی و رطوبت خاک برای تأمین نیاز آبی گیاه جهت رشد و رسیدن بهینه ناکافی می‌باشد.

---

[1] Meteorological drought
[2] Hydrological drought
[3] Agricultural drought

از دیدگاه کشاورزی، خشکی عبارت است از وقوع دوره‌ای خشک که منتج به کاهش عملکرد نسبت به حالت تأمین آب می‌گردد (مونز، ۱۹۸۸).

از دیدگاه فیزیولوژی گیاهی، خشکی بسیار فراتر از فقدان نزولات آسمانی است و در حقیقت از تلاقی هفت عامل تنش‌زای محیطی حاصل می‌گردد. این عوامل عبارتند از:

- قابلیت دسترسی اندک به رطوبت موجود در خاک که منجر به محدودیت تأمین آب توسط ریشه‌های گیاه می‌گردد.

- افزایش میزان تبخیر که بر اثر کمبود رطوبت، دمای زیاد، تابش بالای خورشیدی و باد شدید حاصل می‌شود. در این حالت پتانسیل کسر آب از برگ‌ها به حدی می‌رسد که می‌تواند بر جذب آب توسط ریشه، حتی در صورت آبیاری کامل غلبه نماید.

- دمای بالا که موجب تنفس زیاد و وارد آمدن آسیب به فرایندهای سوخت‌وساز گیاه و در نهایت صدمه به ساختار سلول می‌گردد.

- تابش شدید خورشیدی که منجر به بازدارندگی نوری، اکسیداسیون نوری و سرانجام، مرگ برگ می‌شود.

- سخت و نفوذناپذیر شدن خاک به محض خشک شدن که بر رشد ریشه تأثیر می‌گذارد. کاهش رشد ریشه نیز به نوبه خود منتهی به کاهش رشد برگ و تقلیل فتوسنتز به ویژه در گیاهچه‌ها می‌شود.

- عدم دسترسی به مواد غذایی، به ویژه در بخش‌های فوقانی نیم‌رخ خاک که از لحاظ عناصر غذایی ناحیه‌ای غنی است ولی خشکی در آن به سرعت رخ می‌دهد.

- تجمع املاح در خاک و پیرامون ریشه که موجب ایجاد تنش اسمزی می‌گردد.

اگر گیاه به‌طور مصنوعی تحت شرایط تنش رطوبتی قرار گیرد واژه‌ی تنش کمبود آب به کار می‌رود. چنانچه در اثر خشکی هوا، رطوبت داخلی گیاه به کمتر از ۵۰ درصد مقدار عادی خود برسد در این صورت گیاه دچار آب کشیدگی شده و چنانچه رطوبت داخلی گیاه کمتر از مقدار عادی ولی بالاتر از ۵۰

درصد باشد به آن پسابیدگی گویند (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۷۲). میزان خسارت وارده به گیاه در اثر تنش خشکی بسته به طول مدت خشکی، زمان وقوع تنش، فراوانی وقوع تنش، نوع گیاه و ویژگی‌های ذاتی خاک متفاوت است.

۲-۱۰- اثرات تنش خشکی بر گیاه

گیاهانی که در معرض تنش خشکی قرار دارند، نه تنها اندازه‌شان کاهش می‌یابد بلکه خصوصیات ساختمانی به‌ویژه برگ‌های آنها نیز تغییر می‌کند. سطح برگ، اندازه سلول‌ها و حجم منافذ بین سلولی اغلب کاهش پیدا می‌کند ولی مقدار کوتین، تعداد کرک‌ها، تعداد رگبرگ‌ها و ضخامت لایه‌های پارانشیمی برگ‌ها افزایش می‌یابد. نتیجه این وضعیت ضخامت به نسبت زیاد، چرمی شدن، کوتینی شدن شاخ و برگ است که از خصایص گیاهان مقاوم به خشکی می‌باشد. از دیگر اثرات کمبود آب، می‌توان به اثر مهم کمبود در بافت‌های مریستمی اشاره کرد که بر روی فعالیت‌های سازندگی از قبیل ساختن DNA و RNA و مواد جدار سلول مؤثر است. کاهش آماس باعث تقلیل نمو سلول می‌شود که به‌نوبه خود موجب کاهش نمو برگ، شاخه و ریشه‌ها می‌شود. از طرفی کاهش آماس بر فرآیندهای وابسته به آن نظیر باز شدن روزنه‌ها مؤثر است اما می‌توان گفت که اغلب اثرات تنش آب به‌جز آن‌هایی که مستقیم از طریق کاهش آماس وارد عمل می‌شود، بستگی به از دست دادن آب پروتوپلاسم دارد. کاهش لزوجت پروتوپلاسم، افزایش نفوذپذیری نسبت به آب، اوره و گلیسیرین، تجزیه پروتئین‌ها و افزایش تنفس در مراحل اولیه برخورد گیاه با تنش آب رخ می‌دهد. کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فعالیت‌های پروتوپلاسمی نیز موجب تقلیل فتوسنتز می‌شود.

تنش آب بر هریک از جنبه‌های رشد مؤثر بوده و موجب تغییرات آناتومی، مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی می‌گردد. برخی از این اثرات مربوط به کاهش آماس، بعضی مربوط به کاهش پتانسیل آب و

شاید برخی از آنها مربوط به کاهش پتانسیل اسمتیک در گیاه باشد. واضح است که تنش طولانی آب موجب کاهش اندازه گیاه می‌شود. گرچه کاهش آماس سلول مهم‌ترین عامل کوچک ماندن اندازه گیاه است ولی تنش آب تقریبا بر هر فرآیندی از گیاه مؤثر بوده و علاوه بر آماس عوامل دیگری نیز دخالت دارند. فشار آماس در سلول‌های در حال رشد کم است، ولی برای اتساع سلول‌ها به حداقلی از فشار آماسی نیاز می‌باشد. آماس از نظر باز و بسته شدن روزنه‌ها، رشد برگ‌ها، گل‌ها و حرکات مختلف اعضاء گیاه حائز اهمیت است. از طرف دیگر فرآیندهای آنزیمی نیز محتملا به‌طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند. گاهی اوقات این سوال پیش می‌آید که آیا کاهش پتانسیل آب می‌تواند ساختمان پروتئین‌ها را به حدی تغییر دهد که بر عمل آنزیم‌ها مؤثر واقع گردد. به‌هرحال کمبود آب به مقدار چند بار موجب تغییر متابولیسم کربوهیدرات‌ها و ازت شده و روشن‌ترین دلیل آن این است که تغییر ساختمان پروتئین‌ها در اثر کاهش پتانسیل آب بر فعالیت آنزیم‌ها مؤثر واقع می‌گردد. اثر احتمالی دیگر، مختل نمودن ساختمان ظریف سلول و منحرف نمودن مواد غذایی از مسیر متابولیکی طبیعی خود می‌باشد. پتانسیل اسمتیک سلول بسیار حائز اهمیت بوده و پروتوپلاسم سلول و اجسام حل‌شدنی باید از نظر اسمزی به حالت تعادل قرار داشته باشند. بنابراین در سلول‌هایی که پتانسیل اسمتیک آنها ۲۰- بار است مقدار آب پروتوپلاسم کمتر از سلول‌هایی است که پتانسیل اسمتیک ۱۰- بار دارند. درحالی‌که اگر در حالت آماس کامل قرار داشته باشند پتانسیل آب هر دوی آنها صفر است. کاهش محصول گیاهان زراعی از لحاظ کمیت با کاهش پتانسیل اسمتیک شیره گیاه مرتبط است. البته ممکن است کاهش جزئی پتانسیل اسمتیک با کاهش شدید آماس و پتانسیل آب همراه باشد.

معمولاً اثر تنش آب بر رشد گیاه تصاعدی است. مثلاً با بسته شدن روزنه‌ها، میزان فتوسنتز تقلیل پیدا کرده و تأمین دی‌اکسید کربن نیز تقلیل می‌یابد. تنش آب همچنین توانایی پروتوپلاسم را برای عمل فتوسنتز کاهش داده و کاهش فتوسنتز باعث می‌شود جابجایی کربوهیدرات‌ها و مواد تنظیم‌کننده رشد

تقلیل یافته و اختلال در متابولیسم ازت نیز به کاهش آماس و رشد می‌افزاید. کاهش رشد باعث کاهش سطوح سنتزکننده نور شده و مقدار نسبی کربوهیدرات موجود برای رشد در مقایسه با گیاهانی که تحت تنش قرار نگرفته‌اند کم می‌باشد.

تحقیقات نشان داده است که تنش بر رشد طولی ریشه و ساقه مؤثر است، اما تأثیر آن بر رشد طولی و وزن خشک ریشه به اندازه ساقه، تاج گیاه و سطح برگ نیست (سرمدینا و کوچکی، ۱۳۷۶). هوگن‌بوم و همکاران (۱۹۸۷) اظهار داشتند، افزایش رشد طولی ساقه بر اثر افزایش تعداد گره و طول میان گره صورت می‌پذیرد که در اکثر مواقع طویل شدن میان گره بیش از سرعت تشکیل گره تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد. دلیل کاهش طول میان گره، کاهش مقدار فتوسنتز از طریق مکانیسم‌هایی مانند کاهش سطح برگ می‌باشد. بویر (۱۹۷۰)، با اشاره به دو عامل تقسیم و بزرگ شدن سلولی در اندام‌ها و به‌خصوص ساقه نشان داد که تأثیر تنش خشکی بر بزرگ شدن سلول‌ها بیش از تقسیم سلول‌ها است. این مساله در برگ‌ها نیز همانند ساقه مشاهده می‌گردد. در رابطه با اثر تنش آبی بر رشد ریشه نیز باید گفت، سرعت رشد ریشه‌ها با آغاز تنش و ادامه آن به‌تدریج کاهش می‌یابد، البته رشد ریشه نسبت به رشد قسمت‌های هوایی گیاه کمتر تحت تأثیر قرار گرفته و به‌طورکلی، نسبت ریشه به ساقه افزایش می‌یابد. در اثر تنش آب، لایه‌ای از جنس سوبرین تا بخش‌های انتهایی ریشه را می‌پوشاند، لذا از ظرفیت جذب ریشه کاسته می‌شود. در داخل خاک، معمولاً ریشه‌ها به طرف آب در خاک به شرط آنکه فاصله آنها با آب کم باشد، رشد می‌کنند. هنگامی که بارندگی سبک و مکرر باشد، تنها قسمت کوچکی از ناحیه بالقوه ریشه مرطوب شده و نفوذ ریشه، تنها به لایه کم‌عمق محدود می‌شود. در این حالت گیاه نسبت به دوره خشکی به‌خصوص در مراحل بعدی رشد، حساس خواهد بود (عباسعلی، ۱۳۷۸). رشد اندام‌های هوایی در مقابل اندام‌های زیرزمینی معمولاً به‌صورت نسبت ریشه به ساقه بیان می‌شود. نسبت فوق می‌تواند نمایان گر نوعی از تحمل به تنش خشکی باشد (جمالی و همکاران، ۱۳۹۱).

به‌طورکلی صدمات وارده در اثر تنش آب در برخی از مراحل بحرانی مخصوصاً پر شدن دانـه، بـیش از مراحل دیگر است. با در نظر گرفتن این حقایق مسلم می‌شود که اثر تـنش آب در مراحـل مختلـف دوره رشد کاملا متفاوت است. مثلا آبیاری چغندرقند در یک نقطه نـه‌تنهـا محصـول را افـزایش نمـی‌دهـد بلکـه میزان قند آن را نیز کاهش می‌دهد. ولی آبیاری در نقطـه دیگـر ممکـن اسـت موجـب افـزایش محصـول و مقدار قند گردد. این اختلاف احتمالاً از این ناشی می‌شود که کشت چغندر در این دو نقطه متفـاوت اسـت. بنابراین اثرات آبیاری و خشکی را در صورتی می‌توان ارزیابی نمود کـه بشـود تـنش آب را در فصـل رویـش اندازه‌گیری کرد و مشخص نمود که تنش آب در چه زمانی اتفاق می‌افتد.

۲-۱۰-۱- تاثیر تنش خشکی بر تجمع متابولیت ها در سلول

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده مکانیسم‌هـای دفـاعی مختلفـی شـامل آنزیمـی و غیرآنزیمی را بکار می‌برند (اوزکور و همکاران، ۲۰۰۹).

سیستم غیرآنزیمی شامل فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین می‌باشد. ترکیب‌های فنلی شـامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که بسیاری از ترکیب‌های حلقـوی مثـل فلاونوئیـدها، تـانن‌هـا و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مثل پـرولین را شـامل مـی‌شـوند. ایـن ترکیـب‌هـا دارای نقـش‌هـای متعـدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و آنتـی‌اکسـیدانی مـی‌باشـند (آنـدره و همکـاران، ۲۰۰۹). فلاونوئیدها می‌توانند از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کننـد، بـه ایـن معنـا کـه در شـرایط تـنش افـزایش می‌یابند و توان پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن را دارند. آنتوسیانین‌هـا نیـز رنگیـزه محـافظ بـوده کـه در شرایط تنش افزایش می‌یابند و گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند (چاکراسکات، ۲۰۰۲). ایـن افـزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم ROS در طول تنش اکسـیداتیو مـی‌باشـد (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰، الف). قندهای محلول گروهی از اسمولیت‌های سـازگارند کـه در شـرایط خشـکی

تجمع یافته و به‌عنوان عامل محافظتی اسمزی عمل می‌نمایند و افزایش قندها در اثر تنش با تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و هم‌چنین با پایدار کردن غشاها و پروتئین‌ها در ارتباط است (بوهنرت و همکاران، ۱۹۹۵). افزایش قندهای محلول در شرایط خشکی می‌تواند به جابجایی کمتر آن‌ها از برگ، مصرف کمتر آن‌ها در اثر کاهش رشد و تغییرهای دیگری چون آبکافت (هیدرولیز) نشاسته نسبت داده شود (کملی و لوسل، ۱۹۹۶). در شرایط تنش ملایم آب، پرولین و بتائین از برگ‌های بالغ به برگ‌های جوان‌تر انتقال می‌یابند و تنها تنش‌های خیلی شدید از صدور و تجمع تحریک‌شده این ترکیبات در برگ جلوگیری می‌کنند که نشان می‌دهد انتقال شیره پرورده به بافت‌های مریستمی و در حال رشد به تنش آب نسبتا غیرحساس است (یانگ و همکاران، ۲۰۰۹).

آنزیم‌ها اساسا کاتالیزور واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاهان بوده و جزو حساس‌ترین عوامل ایجادکننده‌ی تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش‌های محیطی به‌شمار می‌آیند. تنش‌های محیطی موجب انباشت گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل، در سلول و آسیب به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردند (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). در مقابل، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در حذف و جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال هستند (پن و همکاران، ۲۰۰۶). کلروپلاست و میتوکندری در سلول‌های گیاهی مهم‌ترین مکان‌های تولیدکننده گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند. سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان عالی از چندین آنزیم ویژه تشکیل شده است که شامل پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد. این آنزیم‌ها می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال را که تولید آن‌ها در شرایط تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد از میان برده (تن و همکاران، ۲۰۰۶) و سرانجام موجب پایداری گیاهان در برابر تنش‌های محیطی و از جمله تنش خشکی گردند (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). گیاهانی که دارای سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، مقاومت بیشتری را به آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند (اسفندیاری و همکاران، ۲۰۰۷).

۲-۱۱- مدیریت تنش خشکی

تنش خشکی پدیده‌ای طبیعی است اما می‌توان با مدیریت مناسب آن را کنترل نمـوده و حتـی در صورت لزوم برای تولید مناسب‌تر محصول استفاده کرد. به‌منظور کاهش اثرات مضر تـنش خشـکی بایـد بـا استفاده از شرایط موجود و انجام راهکارهایی تا حد امکان زمینه را جهت تولید محصول بهتـر فـراهم کـرد. برخی از این راهکارهای مدیریتی به شرح زیر می‌باشند:

الف) انتخاب واریته‌های مقاوم: برای افزایش تولید در نواحی با سابقه تـنش خشـکی، بهتـر اسـت از ارقام مقاوم به خشکی استفاده نمود.

ب) افزایش کارآیی مصرف آب: یکی از ساده‌ترین راه‌های مبارزه با تنش کـم‌آبـی (خشـکی)، انجـام آبیاری صحیح و به‌موقع است. ازآنجایی‌که نواحی با سـابقه تـنش خشـکی، اغلـب کشـاورزان بـا کمبـود آب مناسب مواجه هستند، باید سعی نمود تا کارآیی مصرف آب افزایش یابد. این امر نیازمنـد افـزایش رانـدمان انتقال آب به مزرعه، انتخاب بهترین زمان آبیاری، انتخاب مناسب‌ترین گیاه با توجه به شـرایط آب و هـوایی منطقه و غیره است. با توجه به وجود تبخیـر زیـاد در منـاطق خشـک، بهتـر اسـت جهـت کـاهش تبخیـر حتی‌الامکان آبیاری شبانه انجام داد. مالچ پاشی نیز علاوه بر کاهش مقـدار تبخیـر از سـطح خـاک، از رشـد علف‌های هرز (که دارای رقابت با گیاه از نظر دریافت آب هستند) جلوگیری می‌کند.

ج) تغذیه بهینه گیاه با عناصر غذایی: اهمیـت عناصـر غـذایی بخصـوص پتاسـیم در کـاهش تـنش خشکی به اثبات رسیده است. درصورتی‌که سلول‌های ریشه گیاه دارای عناصر غـذایی، بـه‌خصـوص پتاسـیم به مقدار کافی باشند، در شرایط رطوبت خاک مناسب، بهتر می‌توانند آب موردنیاز گیاه را جذب کنند.

تنش خشکی زمانی در گیاه حادث می‌شود که میزان آب دریافتی گیاه کمتر از تلفات آن باشد. ایـن امر ممکن است به علت اتلاف بیش‌ازحد آب یا کاهش جذب آب و یا هر دو مورد بـه وجـود آیـد (کـوچکی و علیزاده، ۱۳۷۴). کاهش پتانسیل اسمزی و پتانسیل کل آب همراه با از بین رفتن آماس بسته شدن روزنـه‌هـا

و کاهش رشد از علائم مخصوص تنش آب است. درصورتی‌که شدت تنش زیاد باشد موجب کاهش شدید فتوسنتز و مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیک، توقف رشد و سرانجام خشک شدن و مرگ گیاه می‌شود.

ایران علاوه بر خشک بودن کشوری مستعد خشکسالی است و میزان خسارت خشکسالی به علت کاهش سرانه آب قابل دسترس ناشی از افزایش جمعیت، تغییر اقلیم، بهره‌برداری بیش از حد و کاهش کیفی منابع آب موجود در حال افزایش است. از آنجایی که در حال حاضر هیچ راه منطقی برای افزایش نزولات جوی در طول دوره‌های خشکی وجود ندارد، لذا بهترین راه مقابله با خشکی به کارگیری عملیات زراعی مناسب و استفاده از ارقامی است که تحمل بیشتری به خشکی داشته باشند.

۲-۱۲- بیوچار

تجزیه گرمایی زیست‌توده گیاهی در غیاب جزئی و یا کامل اکسیژن یا گرماکافت علاوه بر دی‌اکسید کربن، گازهای سوختی، مواد تبخیرشونده و بخارهای قیری، یک جزء جامد غنی از کربن بنام بیوچار تولید می‌نماید. بیوچار یک ماده متخلخل و غنی از کربن است که از گرمادهی بقایای آلی مانند ضایعات گیاهی، کودهای دامی و سایر ضایعات در دماهای ۴۰۰ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد در یک محیط بدون اکسیژن یا با میزان اکسیژن محدود به دست می‌آید (لهمان و جوزف، ۲۰۰۹). بیوچار دارای جرم مخصوص کم، تخلخل زیاد، ظرفیت تبادل کاتیونی بالا، ظرفیت نگهداری رطوبت قابل‌ملاحظه و بسیار پایدار است. این خصوصیات همه به نوع مواد اولیه و شرایط فرآوری مانند دمای تولید، میزان حرارت دادن، فشار، مدت زمان واکنش و اندازه ذرات بستگی دارد. وجه مشترک بیوچار با ذغال این است که عمدتاً از اشکال آروماتیک کربن آلی تشکیل یافته و در مقایسه با کربن موجود در مواد اولیه در شرایط مناسب مانند آنچه در خاک وجود دارد به راحتی به‌صورت دی‌اکسید کربن به اتمسفر برنمی‌گردد (یانگ و شنگ، ۲۰۱۲).

زیست‌توده‌ها و مواد آلی مانند بقایای محصولات کشاورزی (مانند کاه و کلش گندم)، شاخ و بـرگ و چوب درختان، لجن فاضلاب، و کودهای دامی را می‌توان به بیوچـار تبـدیل کـرد (لهمـان و جـوزف، ۲۰۰۹). فرآیند گرماکافت باعث خارج شدن هیدروژن و اکسیژن از ساختمان زیست‌توده می‌شود. بـا کـاهش نسـبت هیدروژن به کربن و اکسیژن به کربن در ساختمان بیوچار، درصد آروماتیسـیتی[1] کـربن در بیوچـار افـزایش می‌یابد. بنابراین، کربن آلی بیوچار ساختار آروماتیکی داشته و در برابـر تجزیـه‌هـای زیسـتی و غیـر زیسـتی مقاومت بسیار زیادی دارد (لهمان و جوزف، ۲۰۰۹). با افزایش دما، درصد کربن آن کاهش یافته ولی درصـد آروماتیک بودن کربن افزایش می‌یابد و باعث افزایش مقاومت و پایداری زیستی بیوچار می‌شود. همچنـین بـا افزایش دمای گرماکافت درصد تولید گاز زیستی افزایش و درصد تولید روغن زیسـتی تـا یـک حـدی از دمـا (حدود ۵۰۰ درجه سلسیوس) افزایش یافته و سپس با افزایش دمـا کـاهش مـی‌یابـد. کـاهش درصـد روغـن تولیدشده در دمای بالاتر به علت تبدیل آن به گاز زیستی در دمای بالا می‌باشد. بنـابراین، بیوچـار تولیدشـده در دمای گرماکافت کم نسبت به دمای بالا به علت دارا بودن درصد بیشتری از عناصـر غـذایی دارای ویژگـی اصلاح‌کنندگی بهتری برای خاک می‌باشد و بیوچار تولیدشده در دمای بالا بـه علـت مقاومـت زیـاد کـربن در برابر تجزیه، دارای ظرفیت زیادی برای ترسیب کربن می‌باشد (ورهیجن و همکاران ۲۰۱۰).

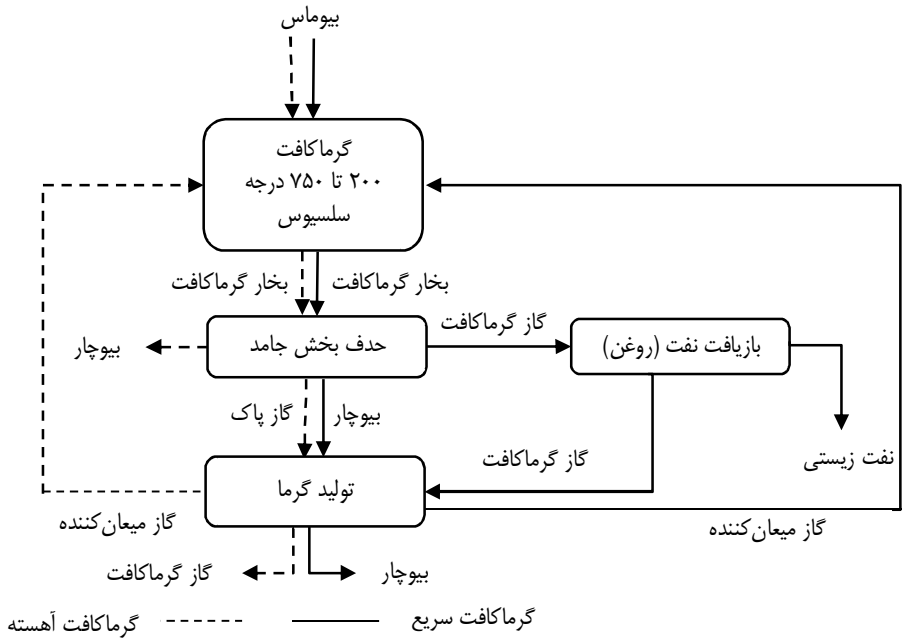
امروزه گرم شدن کره زمین و تغییرات اقلیمی به چالش بزرگی در جهان تبدیل شده اسـت و یـافتن راه‌حل‌های مقابله با این پدیده توجه دانشمندان را در سرتاسر جهان به خود جلب کرده است. این مسئله در کشورهای صنعتی که حجم انبوهی از گازهای گلخانه‌ای را تولید مـی‌کننـد اهمیـت بیشـتری دارد. افـزایش گازهای گلخانه‌ای مانند دی‌اکسید کربن در اتمسفر مهم‌ترین عامل افزایش گرمایش زمین می‌باشد. گیاهـان و درختان کربن اتمسفر را از هوا گرفته و با استفاده از نور خورشید و آب مواد موردنیاز حیـات خـود را تولیـد می‌کنند. با تبدیل این زیست‌توده‌های آلی به بیوچار، تغییراتی در ساختار مواد آلی به وجود می‌آید که کربن

[1] Aromaticity

آلی را برای صدها سال در ساختمان بیوچار به دام می‌اندازد و بدین ترتیب، غلظت دی‌اکسید کربن اتمسفر و تغییرات اقلیمی کاهش می‌یابد (لهمان و جوزف، ۲۰۰۹).

در حال حاضر اصلاح‌کننده‌های آلی یک انتخاب قابل‌قبول در جهت زیست‌پالایی خاک به‌شمار می‌روند. کربوکسیل، فنولیک هیدروکسیل و دیگر گروه‌های عاملی شامل اکسیژن‌های سطحی، بیوچار را قادر می‌سازند تا آلایندگی حاصل از آلاینده‌های آلی را کاهش دهد (یو و همکاران، ۲۰۰۹). بیوچار بر روی سطوح خود دارای گروه‌های عاملی است و بار منفی گروه‌های عاملی در طول زمان و در طی اکسایش در خاک افزایش می‌یابد (چیانگ و همکاران، ۲۰۰۷).

برای تولید بیوچار از دستگاه‌های گرماکافت‌کننده استفاده می‌شود. دستگاه تولید بیوچار دارای یک مخزن می‌باشد که زیست‌توده در داخل آن قرار داده می‌شود و بعد از خارج کردن اکسیژن حرارت داده می‌شود و بدین ترتیب، زیست‌توده داخل مخزن تبدیل به بیوچار می‌شوند. فرایند گرماکافت و محصولات به‌دست‌آمده از این فرایند در شکل ۲-۴ نشان داده شده است (عظیم زاده و نجفی، ۱۳۹۵).



شکل ۲-۴. محصولات حاصل از گرماکافت زیست توده

اثرات مفید بیوچار از بیش از ۲۰۰۰ سال پیش و در زمان کشاورزی "بریدن و سوزاندن[1]" شناخته شده است (وینسلی، ۲۰۰۷). بیوچار به‌دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردی که دارد، به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک مورد استفاده قرار می‌گرفته است. خصوصیات بیوچار به‌ویژه پایداری، آن را از سایر اصلاح‌کننده‌های خاک به عنوان مثال، کمپوست و کودهای سبز و حیوانی متمایز می‌کند (حجازی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵).

تحقیقات نشان می‌دهد که بیوچار نقش مهمی در ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک مانند افزایش ذخیره کربنی، تعادل بوم نظام‌های خاکی، افزایش pH، CEC، ظرفیت بافری (لهمان و همکاران، ۲۰۰۳) ، بهبود ساختمان خاک (چن و همکاران، ۲۰۰۷)، افزایش زیست‌توده میکروبی، فراهمی عناصر غذایی و بهبود حاصلخیزی خاک (استینبیس و همکاران، ۲۰۰۹) دارد و این اثرهای بیوچار، به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن مربوط می‌باشد که از آن جمله می‌توان به تخلخل و سطح ویژه بالا، مقاومت زیاد در برابر تجزیه زیستی، غنی بودن از عناصر و مواد قابل‌جذب pH و CEC زیاد و داشتن و ظرفیت نگهداری آب بالا اشاره کرد (لهمان و جوزف، ۲۰۰۹). بیوچار بسته به نوع زیست‌توده اولیه و شرایط گرماکافت، ممکن است دارای مقادیری فلزات سنگین و ترکیبات آلی سمی باشد و افزودن آن به خاک ممکن است آلودگی‌های زیست‌محیطی را در پی داشته باشد. در مورد مواد سمی موجود در بیوچارهای تولید شده از بیومس‌های مختلف و همچنین اثرات بلندمدت بیوچار بر خاک اطلاعات کافی در دسترس نبوده و نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد (ورهیجن و همکاران، ۲۰۱۰).

تولید و استفاده از بیوچار و تحقیقات مربوط به آن در جهان رو به افزایش بوده و انتظار می‌رود که در سال‌های آینده، تحقیقات مربوط به بیوچار در کشور ایران نیز افزایش یافته و تولید و استفاده از این ماده در ایران نیز موردتوجه قرار گیرد. لذا، تحقیقات زیادی در این رابطه نیاز است تا بیوچارهای تهیه‌شده از زیست‌توده‌ها و شرایط گرماکافت مختلف در خاک‌های مناطق مختلف کشور مورد آزمایش قرار گیرد.

---

[1] Slash and burn

۲-۱۳- عوامل مؤثر بر خصوصیات بیوچار

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیوچار تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله نوع مـواد اولیـه، شـرایط واحد گرماکافت، سرعت گرمادهی، اندازه ذرات بیوچار و دمای اوج گرماکافت و مدت زمـان گرماکافـت قـرار می‌گیرد. دامنه گسترده فرایند گرماکافت منجر به تشکیل بیوچارهایی می‌شود که از نظر ترکیـب عنصـری و خاکستر، جرم مخصوص، تخلخل، توزیع اندازه منافذ، سطح ویژه، خصوصیات شیمیایی سطح، جـذب و دفـع آب و یون‌ها، pH و یکنواختی ساختمان فیزیکی بسیار متفاوت هستند (لایرد و همکاران، ۲۰۱۰، الف).

دما از متغیرهای اصلی تهیه بیوچار است کـه تـأثیر مهمـی بـر خصوصـیات فیزیکـی و شـیمیایی و پایداری آن دارد. خصوصیاتی از بیوچار که تحت تأثیر دما قرار می‌گیرند عبارتند از مقدار بیوچار تولیـد شـده (آستون و همکـاران، ۲۰۱۳)، درصـد کـربن، ترکیـب عنصـری (خـادم و همکـاران، ۱۳۹۵؛ دوی و سـاروها، ۲۰۱۳) میزان خاکستر، میزان مواد فرار، وزن مخصوص، توزیع اندازه خلل و فـرج، سـطح ویـژه، خصوصـیات شیمیایی سطح (نوواک و همکاران، ۲۰۰۹، الف)، جذب سطحی آب و یون‌ها، pH (گوندل و دلوکـا، ۲۰۰۶)، ساختمان فیزیکی و پایداری در مقابل تجزیه (بالداک و اسمرنیک، ۲۰۰۲؛ لهمان و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از ویژگی‌های مهم بیوچار، پایداری آن پس از افزودن به خاک می‌باشـد، کـه بـه دمـای تولیـد بیوچار و حتی شرایط و نوع خاک بستگی دارد (لهمـان و همکـاران، ۲۰۰۹). ایـن خصوصـیت بیوچـار بـرای ترسیب کربن در خاک بسیار مهم است (بـامینگر و همکـاران، ۲۰۱۴). فانـگ و همکـاران (۲۰۱۴) پایـداری بیوچار تولید شده در دماهای ۴۵۰ و ۵۵۰ درجه سانتیگراد را در چهار خاک مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که پس از گذشت یک سال تنها ۳/۷۱-۰/۳ درصد کـربن بیوچـار معـدنی مـی‌شـود و بـا افزایش دمای گرماکافت، پایداری کربن بیوچار افزایش می‌یابد. پایداری بیشتر کـربن بیوچـار تولیـد شـده در دماهای بالاتر به درصد نسبی کربن الکیل و آروماتیک، میزان تراکم کربن آروماتیـک، نـوع مـواد اولیـه مـورد استفاده برای تولید بیوچار و کاهش بخش ناپایدار کربن نسبت داده می‌شود. شواهد نشان می‌دهد کـه کـربن

بیوچار بسیار مقاوم و پایدار بوده و زمان ماندگاری آنها در مورد بیوچار چوب در دامنه ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ سال قرار می‌گیرد که ۱۰ تا ۱۰۰۰ برابر زمان ماندگاری کربن آلی خاک است. بنابراین افزودن بیوچار به خاک می‌تواند مخزن بالقوه‌ای از کربن را در خاک فراهم آورد (ورهیجن و همکاران، ۲۰۱۰). بیوچار بجز بخش کربنی پایدار حاوی مقدار زیادی خاکستر می‌باشد که حاوی نمک‌های معدنی است که در کوتاه‌مدت می‌تواند به تغذیه گیاه کمک نموده و باعث افزایش عملکرد گیاه گردد. میزان خاکستر موجود در بیوچار تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد که از جمله این موارد می‌توان نوع مواد اولیه و دمای گرماکافت را نام برد. نتایج مطالعات مختلف (یانگ و شنگ، ۲۰۱۲؛ دوی و ساروها، ۲۰۱۳) نشان می‌دهد با افزایش دمای گرماکافت بر میزان خاکستر آن افزوده می‌شود.

۲-۱۴- کاربرد بیوچار

به‌طورکلی بیوچار برای تحقق چهار هدف مدیریت ضایعات، کاهش تغییرات اقلیمی و مصرف سوخت‌های فسیلی، تولید انرژی و نیز بهبود خصوصیات خاک تهیه می‌شود (رودریگز، ۲۰۱۰) (شکل ۲-۵).

شکل ۲-۵. اهداف کلی تولید و مصرف بیوچار

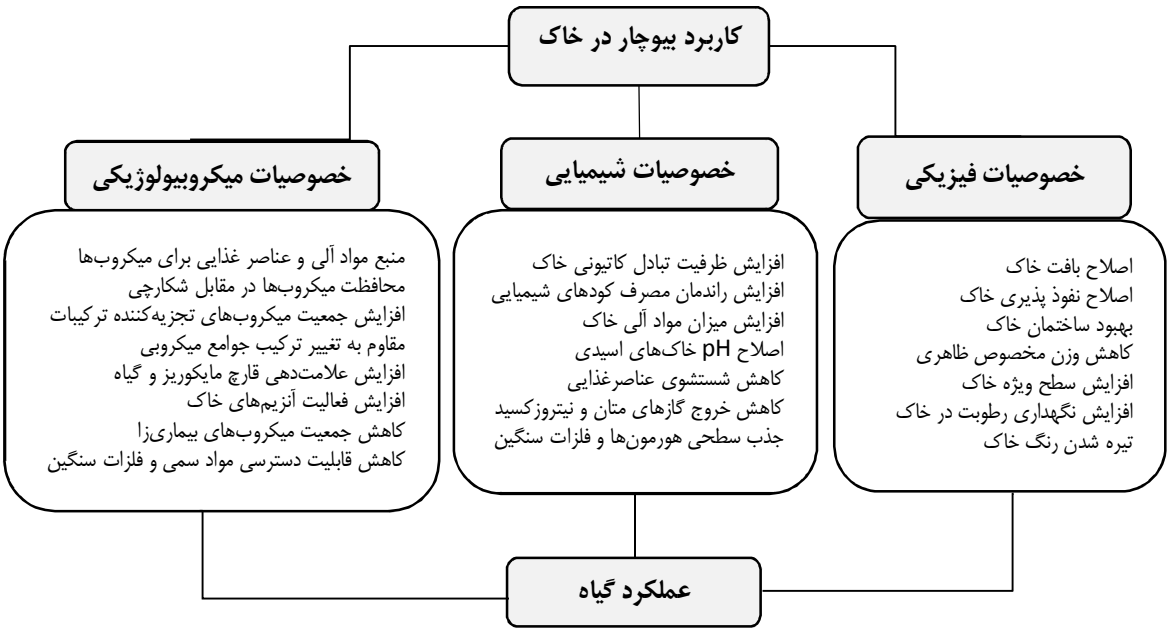
مدیریت ضایعات: تولید و مصرف بیوچار پتانسیل زیادی برای مدیریت ضایعات گیاهی و حیوانی دارد و بنابراین آلودگی محیط‌زیست را کاهش می‌دهد. ضایعاتی که برای تولید بیوچار استفاده می‌شوند

شامل ضایعات محصولات کشاورزی (وو و همکاران،۲۰۱۳)، ضایعات جنگلداری (روتیگلیانو و همکاران، ۲۰۱۴)، کودهای حیوانی (اویانگ، ۲۰۱۳)، ضایعات فرآوری محصولات غذایی (کارتر و همکاران،۲۰۱۳)، ضایعات کاغذسازی (وان زویتن و همکاران، ۲۰۱۰) و ضایعات جامد شهری و لجن فاضلاب هستند (پازفریرو و همکاران، ۲۰۱۲) می باشند.

کاهش تغییرات اقلیمی: تولید و مصرف بیوچار به عنوان یکی از بهترین روش‌های کاهش تغییرات اقلیمی پیشنهاد شده است (آمونته و جوزف، ۲۰۰۹). در مطالعات تأثیر بیوچار بر خصوصیات خاک مشخص گردیده پایداری بالای بیوچار در خاک عامل کلیدی در کاهش خروج گازهای گلخانه‌ای به اتمسفر است. بیوچار علاوه بر دی اکسید کربن از خروج گازهای نیتروزاکسید و متان نیز جلوگیری می‌نماید (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۲).

کاهش مصرف سوخت‌های فسیلی: در فرایند گرماکافت گازهایی از قبیل متان و اتان تولید می‌گردد که استفاده از انرژی به‌دست‌آمده از این گازها مصرف سوخت‌های فسیلی را کاهش داده و نیمی از کربن تثبیت‌شده طی فتوسنتز نگه داشته می‌شود (مهتاب و همکاران، ۲۰۱۴).

بهبود خصوصیات خاک: مصرف بیوچار در خاک باعث اصلاح خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک می‌گردد. نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد مصرف بیوچار در خاک موجب بهبود خصوصیات فیزیکی خاک مانند وزن مخصوص ظاهری، هدایت هیدرولیکی، پایداری خاک‌دانه‌ها، ساختمان خاک و سطح ویژه (استمن، ۲۰۱۱؛ اویانگ و همکاران، ۲۰۱۳؛ موخرجی و همکاران، ۲۰۱۴)، خصوصیات شیمیایی خاک از قبیل pH، قابلیت هدایت الکتریکی، ظرفیت تبادل کاتیونی و عناصر قابل جذب خاک (کرمی و همکاران، ۲۰۱۱؛ فارل و همکاران، ۲۰۱۳) و خصوصیات زیستی خاک مانند فعالیت آنزیمی، فعالیت میکروبی، معدنی شدن عناصر، خروج گازهای گلخانه‌ای (پازفریرو و همکاران، ۲۰۱۲؛ وو و همکاران، ۲۰۱۳) می‌گردد.



شکل ۲-۶. تأثیر بیوچار بر خصوصیات خاک (لهمان و همکاران، ۲۰۱۱)

بیوچار خصوصیات مختلف فیزیکی و شیمیایی خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (شکل ۲-۶). تاثیر بیوچار بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک توسط محققان مختلف طی دهه گذشته مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شده که افزودن بیوچار به خاک کیفیت آن را تغییر می‌دهد و اغلب بهبود کیفیت خاک را به همراه دارد (لهمان و جوزف، ۲۰۰۹). اولین مزیت استفاده از بیوچار افزایش مواد آلی خاک است. روش‌های مختلفی برای افزایش مواد آلی خاک وجود دارند که عبارتند از افزودن کودهای دامی، افزودن مالچ، کشت گیاهان پوششی، برگرداندن بقایای گیاهی به خاک. لکن بخش عمده این مواد در مقابل تجزیه میکروبی پایدار نبوده و به سرعت تجزیه و از خاک خارج می‌گردد. با توجه به پایداری بیوچار در مقابل تجزیه میکروبی و زمان ماندگاری طولانی آن در خاک، مصرف بیوچار باعث افزایش سطح مواد آلی خاک به مدت طولانی و در نتیجه بهبود خصوصیات خاک، مخصوصاً در مناطق خشک و نیمه خشک می‌گردد. همچنین، افزودن بیوچار به عنوان یک ماده اصلاحی به خاک موجب افزایش بازهای تبادلی، ظرفیت تبادل کاتیونی و قابلیت دسترسی عناصر غذایی، کاهش وزن مخصوص ظاهری و بهبود ظرفیت نگهداری آب

می‌گردد (لیانگ و همکاران، ۲۰۰۶). بیوچار به خاطر سطح ویژه زیاد و تراکم بار سطحی بالا توانایی خاک برای نگهداری عناصر غذایی و آب قابل استفاده گیاه را افزایش و شستشوی عناصر غذایی و کودها را کاهش می‌دهد (لایرد و همکاران، ۲۰۱۰، ب). نجفی قیری (۱۳۹۴)در بررسی تأثیر کاربرد بیوچار را بر ویژگی‌های خاک و قابلیت جذب عناصر غذایی نشان داد مصرف بیوچار باعث افزایش معنی‌دار ماده آلی و قابلیت هدایت الکتریکی و پتاسیم محلول و تبادلی گردید در حالی که قابلیت دسترسی نیتروژن، فسفر، روی و مس تحت تأثیر مصرف بیوچار قرار نگرفت.

۲-۱۵- تأثیر بیوچار بر خصوصیات فیزیکی خاک

بیوچار دارای جرم مخصوص کم و تخلخل بالا است. بسیار شبیه به خزه اسفگنوم، وقتی خشک است به سختی می‌توان آن را مرطوب کرد؛ اما می‌تواند مقادیر زیادی آب نگه دارد. بیوچار هنگامی که در خاک شنی استفاده شود، می‌تواند ظرفیت نگهداری آب خاک را بهبود بخشد (بریگز و همکاران، ۲۰۰۵). مشخص شده است که بیوچار اضافه شده به خاک‌های رسی اثر قابل‌توجهی بر افزایش ظرفیت نگهداری آب و یا کاهش آن ندارد (میجر، ۲۰۰۹).

بیوچار با دیگر ترکیبات خاک از جمله مواد معدنی و مواد عالی پایدار برهمکنش دارد. در خاک تراپرتای[1] قدیم، بخشی از بیوچار درون خاکدانه‌ها یافت شده است (گلاسر و همکاران، ۲۰۰۰). واکنش بیوچار با دیگر ترکیبات خاک ممکن است در برخی از موارد به خاکدانه‌سازی بهتر در خاک منجر شود (گلاسر و وودز، ۲۰۰۴). چنین فرآیندهای خاکدانه‌سازی در درازمدت رخ می‌دهد، و می‌تواند تهویه خاک و جریان آب در داخل و در سطح خاک را تغییر دهد. نفوذ آب‌های سطحی در خاک اصلاح‌شده با بیوچار بدون تغییر و یا بهبودیافته بوده است (آسای و همکاران، ۲۰۰۹؛ میجر، ۲۰۰۹؛ هاسک و میجر، ۲۰۱۰).

[1] Terra preta

یک مساله جالب مربوط به اثر بیوچار روی رنگ خاک است. خاک تیره‌تر یک ضریب البیدو پایین‌تر دارد (که نشان‌دهنده بازتاب کمتر تابش دریافتی و جذب بیشتر است). این افزایش در جذب نور به‌طور بالقوه می‌تواند گرم شدن کره زمین را تشدید کند. مشخص نیست که آیا این مکانیسم برای استفاده گسترده بیوچار یک نگرانی است یا خیر. اگر خاک اصلاح‌شده با بیوچار تولید زیست‌توده را بهبود بخشد، خاک پوشش بهتری داشته و زیست‌توده باعث خنک شدن آب‌وهوا خواهد شد (مگر اینکه خاک به‌صورت هدفمند بایر نگهداشته شود و یا رشد گیاه به شدت محدود باشد، به‌عنوان‌مثال به خاطر فقدان آب قابل‌دسترس). واقعیت این است که جذب رطوبت بیوچار نیز باید در نظر گرفته شود. به‌عنوان‌مثال، ورهیجن و همکاران (۲۰۱۰) استدلال می‌کنند که اگر بیوچار آب بیشتری را از خاک اطراف جذب کند، با توجه به ظرفیت گرمایی بالای آب آهسته‌تر از خاک مجاور گرم خواهد شد. اگر رنگ خاک با کاربرد بیوچار در ارتباط باشد، در روش‌های کاربرد و حداکثر مقادیر توصیه‌شده، این همبستگی باید لحاظ شود.

۲-۱۶- تأثیر بیوچار بر pH خاک

بسیاری از محققین افزایش در pH خاک زمانی که بیوچار در خاک مورد استفاده قرار گرفت را گزارش کردند (لایرد و همکاران، ۲۰۱۰، الف؛ ون‌زیتن و همکاران، ۲۰۱۰). در مواردی که pH خاک زیر حد مطلوب برای استفاده از آن می‌باشد، افزایش در pH می‌تواند طیف گسترده‌ای از مزایا از نظر کیفیت خاک از طریق بهبود شیمیایی، قابلیت دسترسی به عناصر غذایی گیاه و در برخی موارد با کاهش قابلیت دسترسی به عناصر مضر مانند آلومینیوم را فراهم کند. pH بیوچار می‌تواند متنوع باشد اما اغلب بالاتر از ۹ است. بیوچار می‌تواند دارای اثر آهکی در حدود چند ده درصد باشد (ون‌زیتن و همکاران، ۲۰۱۰). با این حال، مشاهده شده است که بیوچار چوب کاج با pH ۷/۵ یک اثر کاهشی روی pH خاک با pH اولیه ۶/۴

داشت (گاسکین و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از یک بیوچار با اثر آهکی در یک خاک که pH فعلی آن بالاست می‌تواند کمبود عناصر میکرو را تشدید و عملکرد محصول را کاهش دهد (چان و ژو، ۲۰۰۹).

۲-۱۷- تاثیر بیوچار بر عناصر غذایی

بیوچار به دو روش کلی بر قابلیت دسترسی عناصر غذایی خاک تأثیر دارد: یکی افزودن و دیگری نگهداری عناصر غذایی. خاکستر در بیوچار حاوی مواد مغذی گیاهی، بیشتر کاتیون‌های بازی مانند کلسیم، منیزیم و پتاسیم، همچنین فسفر و عناصر کم‌مصرف شامل روی و منگنز می‌باشد. عناصر معدنی موجود در زیست‌توده به استثنای نیتروژن عمدتا در خاکستر بیوچار یافت خواهند شد. در طی فرآیند گرماکافت، نسبت قابل‌توجهی از نیتروژن زیست‌توده از طریق تصاعد از دست می‌رود (چان و ژو، ۲۰۰۹). نیتروژن باقیمانده در بیوچار برای در دسترس قرار گرفتن در گیاهان تمایل کمی دارد (گاسکین و همکاران، ۲۰۱۰)، چون یک جزئی از آن درون ساختارهای کربنی آروماتیک قرار دارد (چان و ژو، ۲۰۰۹). نیتروژن در بیوچارهای به‌دست‌آمده از کودهای حیوانی ممکن است یک استثنا باشد (چان و همکاران؛ ۲۰۰۸؛ تاگوی و همکاران، ۲۰۰۸). مواد مغذی گیاهی بیوچار همراه با بخش محلول خاکستر آن عموما به سهولت برای جذب گیاه در دسترس هستند (نوواک و همکاران، ۲۰۰۹، ب)، اما مشابه هر عنصر محلول و متحرکی در خاک، این عناصر نیز در معرض آبشویی قرار دارند. اگر کاربرد بیوچار جهت تأمین این مواد مغذی برای محصولات باشد، در این مورد این امر نیاز به کاربرد مجدد با هر دوره کشت، به همراه سایر کودها دارد. اما بیوچار نیز یک تأثیر بلندمدت روی مواد مغذی گیاهی در خاک دارد. پس از کاربرد، سطوح بیوچار فرسوده و اکسیده‌تر می‌شود (چنگ و همکاران، ۲۰۰۶). ازآنجاکه بیوچار بسیار متخلخل است و سطح ویژه بزرگی دارد، تأثیر آن بر ظرفیت تبادل کاتیونی خاک در طول زمان می‌تواند مهم باشد.

در آزمایش‌های اخیر نیز، CEC بالاتر خاک با افزودن بیوچار (لیارد و همکاران، ۲۰۱۰؛ میجر و همکاران، ۲۰۱۰؛ ون‌زیتن و همکاران، ۲۰۱۰؛ پنگ و همکاران، ۲۰۱۱)، اما نه همیشه (نوواک و همکاران، ۲۰۰۹، ب) مشاهده شده است. انتظار می‌رود که در خاک اصلاح‌شده با بیوچار با گذشت زمان همان‌طور که هوازدگی اتفاق می‌افتد، CEC افزایش یابد و برای دیدن و تعیین کمیت این اثر آزمایش‌های بلندمدت لازم است. برخی از افراد علاقه‌مند به پیدا کردن راه‌هایی برای سرعت بخشیدن به واکنش‌پذیری بیوچار و افزایش کیفیت خصوصیات آن خاک می‌باشند، برای مثال آن را قبل از اعمال به خاک، با پراکسید هیدروژن تیمار می‌کنند.

۲-۱۸- تاثیر بیوچار بر آبشویی عناصر غذایی

این واقعیت که بیوچار عناصر غذایی موجود در منطقه ریشه را حفظ می‌کند، همچنین نشان داده است که آبشویی عناصر غذایی را از پروفیل خاک کاهش می‌دهد. محققان در مطالعات گلدانی نشان داده‌اند که وقتی بیوچار به خاک اضافه شد، آبشویی عناصر غذایی کاهش می یابد (لایرد و همکاران، ۲۰۱۰، b؛ لهمان و همکاران، ۲۰۰۳؛ میجر و همکاران، ۲۰۰۹؛ نوواک و همکاران، ۲۰۰۹، ب). همچنین در یک مطالعه مزرعه‌ای (میجر و همکاران، ۲۰۰۹) کاهش مشاهده‌شده در آبشویی آمونیوم و کاتیون‌ها (Ca^{2+}،Mg^{2+}) با کاربرد بیوچار را به CEC بیشتر نسبت داده اند (لهمان و همکاران، ۲۰۰۳). بعضی از محققان آبشویی بیشتر پتاسیم در خاک اصلاح‌شده با بیوچار را مشاهده کردند و افزایش را به مقادیر نسبتا زیاد پتاسیم اضافه‌شده همراه با خاکستر بیوچار نسبت دادند (لهمان و همکاران، ۲۰۰۳). مکانیسم‌های اساسی نگهداشت یون‌های با بار منفی شامل ظرفیت تبادل آنیونی بیوچار، برهمکنش بیوچار با دیگر اشکال مواد آلی در خاک و در مورد نیترات، اثرات بر چرخه بیولوژیکی نیتروژن خاک است. کاهش

آبشویی عناصر غذایی از زمین‌های کشاورزی می‌تواند حاکی از کاهش ورود مواد مغذی به آب‌های سطحی و ذخایر آب آشامیدنی باشد.

۲-۱۹- تاثیر بیوچار بر راندمان مصرف کود

یک مفهوم دیگر از حفظ مواد مغذی بیشتر در خاک، راندمان مصرف کود[1] است. به خصوص در مورد نیتروژن، FUE بزرگ‌تر منجر به کاهش هزینه‌های اولیه برای کشاورزان و یا بازده بیشتر برای یک نرخ کاربرد کود می‌شود. قابلیت دسترسی نیتروژن اغلب رشد محصول را محدود می‌کند و کودهای نیتروژن نشان‌دهنده یک سرمایه‌گذاری بزرگ برای کشاورزان می‌باشند. در آمازون برزیل، اشتاینر و همکاران (۲۰۰۸) راندمان استفاده از نیتروژن بزرگ‌تر توسط محصولات زراعی رشد یافته در یک خاک اسیدی اصلاح‌شده با ۱۱ تن در هکتار بیوچار چوب در مدت دو سال را مشاهده کردند. در ۴ آزمایش مزرعه‌ای تحت کشت دیم در استرالیا، بلک‌ول و همکاران (۲۰۱۰) بهبود راندمان مصرف کود فسفر را مشاهده کردند و آن را به برهمکنش‌های بهتر گیاه و میکوریزا در خاک اصلاح‌شده با بیوچار نسبت دادند. این محققین همچنین مشاهده کردند که اثر بیوچار بر راندمان مصرف کود در خاک‌های شنی و لومی بزرگ‌تر از یک خاک لوم رسی بود. این داده‌ها نشان می‌دهد که بیوچار ممکن است در زمین‌هایی که کمتر برای رشد محصول مطلوب هستند، مزایای بیشتری را فراهم کند. این مطالعات نشان می‌دهد که بیوچار دارای پتانسیل برای بهبود راندمان مصرف کود از طریق مکانیسم‌های مختلف، از جمله شیمیایی، بیولوژیکی و فیزیکی می باشد و با توجه به افزایش قیمت کودها می‌تواند دارای پیامدهای مهمی برای کشاورزان باشد.

[1] Fertilizer Use Efficiency

۲-۲۰- تأثیر بیوچار بر ویژگی‌های میکروبی خاک

جامعه زیستی خاک تجمع پیچیده‌ای از باکتری‌ها، قارچ‌ها، آرکئاها، جلبک‌ها، پروتوزواها، نماتدها، بندپایان و انواع بی‌مهرگان است. بیوچار برهمکنش‌های میان اعضاء این جمعیت و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک را تحت تأثیر قرار داده و باروری و نقش کلی آنها را در اکوسیستم تعیین خواهد کرد (لهمان و همکاران، ۲۰۱۱). بیوچار، همانند دیگر اصلاح‌کننده‌های آلی خاک، شرایط فیزیکی و فرایندهای شیمیایی خاک را تغییر می‌دهد (گلاسر و همکاران، ۲۰۰۲؛ استمن، ۲۰۱۱) و در نتیجه بر خصوصیات و رفتارهای جانداران خاک مؤثر است (لهمان و همکاران، ۲۰۱۱؛ ماستو و همکاران، ۲۰۱۳). فعالیت میکروبی خاک بر انجام وظایف آن و رشد و عملکرد گیاه اثرگذار است (پازفریرو و همکاران، ۲۰۱۴). ساختار متخلخل بیوچار، سطوح ویژه بالا و توانایی آن برای جذب مواد آلی محلول، گازها و مواد معدنی محل مناسبی را برای سکونت میکروب‌ها، رشد و تکثیر آنها مخصوصاً باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها و قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار فراهم می‌آورد (لهمان و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین محتوای زیاد کربن و پایداری بیوچار سطح مواد آلی خاک را افزایش می‌دهد که خود نقش اساسی در چرخه عناصر غذایی و بهبود منابع آب قابل‌دسترس برای گیاه، ظرفیت بافری و ساختمان خاک دارد (استینبیس و همکاران، ۲۰۰۹). بیوچار فعالیت انواع مختلف میکروب‌های خاک را که از نظر کشاورزی مهم هستند، تحریک می‌نماید (اندرسون و همکاران، ۲۰۱۱). وجود خلل و فرج و توزیع اندازه آنها در بیوچار با حفاظت میکروب‌ها در مقابل شکار شدن و خشکی و همچنین تأمین نیاز کربنی، انرژی و عناصر معدنی محل مناسبی را برای ریزجانداران فراهم می‌آورد (وارنوک و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین سطح ویژه ایجادشده از ۱۰ تا چند صد متر مربع بر گرم متغیر بوده و سطح زیادی برای میکروب‌های اشغال‌کننده ایجاد می‌نماید. اندازه خلل و فرج مشاهده‌شده در بیوچار به نحوی است که میکروفلور خاک می‌توانند آن را اشغال کرده و از چرا شدن توسط بقیه موجودات محافظت شوند. خلل و فرج زیاد بیوچار اجازه نگهداری مقدار زیادی رطوبت را داده و بنابراین موجب افزایش ظرفیت

نگهداری آب در خاک می‌شود (کرول و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر آب، انواعی از گازها از جمله دی‌اکسیدکربن و اکسیژن در آب موجود در خلل و فرج بیوچار حل شده، فضای داخل خلل و فرج پر شده از هوا را اشغال می‌کنند یا به سطح بیوچار جذب سطحی می‌شوند (شینوگی و کانری، ۲۰۰۳). بسته به میزان خلل و فرج پر شده از هوا، غلظت نسبی گازها، سرعت انتشار و میزان جذب سطحی آنها، شرایط هوازی و غیرهوازی در خلل و فرج بیوچار به وجود می‌آید و این شرایط به نوبه خود بر میکروب‌های موجود در خلل و فرج اثر خواهد گذاشت (شینوگی و کانری، ۲۰۰۳؛ تیز و ریلیگ، ۲۰۰۹). بیوچار pH مختلفی داشته و بنابراین جمعیت میکروبی که در اطراف و روی ذرات بیوچار مستقر می‌شوند، متغیر خواهد بود. در شرایط pH اسیدی قارچ‌ها جمعیت غالب هستند در حالی که باکتری‌ها pH خنثی را ترجیح می‌دهند. افزودن بیوچار به خاک، چه اسیدی و چه قلیایی، ممکن است باعث تغییر معنی‌دار نسبت باکتری به قارچ (بامینگر و همکاران، ۲۰۱۴) و جمعیت میکروبی غالب خاک شده و همچنین با اثر بر فعالیت آنزیمی و فعالیت میکروبی موجب تغییر عملکرد و نقش خاک گردد (وارنوک و همکاران، ۲۰۱۰).

۲-۲۱- تأثیر بیوچار بر کیفیت خاک

اثر بیوچار بر کیفیت خاک و بهره‌وری محصولات کشاورزی متفاوت، اما به‌طورکلی مثبت است. اولین آزمایش‌ها در این زمینه (حدود ۲۰۰۹-۱۹۸۰) که در آنها بیوچار به‌کاررفته شده و نتایج آنها منتشر شده، اکثراً در خاک‌های با حاصلخیزی کم، از جمله خاک‌های اسیدی مناطق حاره انجام شده است. به‌طورکلی، هنگامی که بیوچار در این خاک‌ها استفاده شد، بهبود عملکرد تا ۳۰۰ درصد بیش از شاهد، به دست آمد (بلک‌ول و همکاران، ۲۰۱۰؛ لهمان و راندون، ۲۰۰۶؛ پنگ و همکاران، ۲۰۱۱؛ ون‌زوتن و همکاران، ۲۰۱۰؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰، ب). اثرات مثبت بلند مدت کاربردهای بیوچار در چند مطالعه که در طول چندین سال تحت نظر قرار گرفتند، مشاهده شده است (بلک ول و همکاران، ۲۰۱۰؛ استینر و

همکاران، ۲۰۰۸). اخیراً، بیوچار در خاک‌های مناطق معتدل و با حاصلخیزی بالاتر به کار گرفته شده و سبب بهبود نسبی در تولید زیست‌توده در محدوده ۲۰-۴ درصد شده است (لایرد و همکاران، ۲۰۰۹؛ هاسک و میجر، ۲۰۱۱). برخی از مطالعات گزارش کردند که با کاربرد بیوچار عملکرد نسبت به شاهد کمتر بود. در برخی از موارد محققین کاهش را به غیرمتحرک شدن نیتروژن توسط بیوچار نسبت دادند (بلک ول و همکاران، ۲۰۱۰؛ آسای و همکاران، ۲۰۰۹؛ راندون و همکاران، ۲۰۰۷) و این پدیده انتظار می‌رود که مدت‌زمان نسبتاً کوتاه تا زمانی که جزء ناپایدار بیوچار تجزیه می‌شود، دوام داشته باشد.

۲-۲۲- تأثیر بیوچار بر رشد و عملکرد گیاه

همان‌طور که بیان شد، در اغلب موارد در مطالعات انجام‌شده، بیوچار با تغییر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک موجب بهبود حاصلخیزی خاک شده و در نهایت موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد. تاثیر بیوچار بر عملکرد گیاه به فاکتورهای مختلف از جمله وضعیت حاصلخیزی اولیه خاک، بافت خاک، دمای تهیه و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیوچار و حتی نوع گیاه بستگی دارد و می‌تواند باعث افزایش یا کاهش عملکرد گیاه گردد. مطالعات متعدد انجام‌شده نشان‌دهنده اثرات مثبت و منفی بیوچار بر حاصلخیزی خاک و عملکرد گیاه است. تودرول (۲۰۱۱) اثر بیوچار را بر خصوصیات خاک و رشد گیاه مورد بررسی قرار داد. نتایج این بررسی نشان داد مصرف حدود ۱٪ بیوچار موجب افزایش جوانه‌زنی کاهو گردید که به افزایش نگهداری آب توسط بیوچار نسبت داده شده است. نتایج به‌دست‌آمده توسط میجر و همکاران (۲۰۱۰) افزایش ۱۴۰ درصدی عملکرد و افزایش جذب کلسیم، منیزیم، پتاسیم، مس و منگنز نسبت به شاهد را نشان داد. مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۱۲) افزایش ۷/۵ و ۱۵ درصدی عملکرد ذرت را در اثر مصرف بیوچار نشان داد. در مقابل، برخی از محققان نه‌تنها افزایش عملکرد را مشاهده ننمودند بلکه برخی از بیوچارها موجب کاهش عملکرد گیاه شدند. برای مثال، راجکوویچ و همکاران (۲۰۱۲) در یک

مطالعه گلخانه‌ای نشان دادند که سطح بالای مصرف بیوچار (۷٪) عملکـرد ذرت را کـاهش داد درحـالی‌کـه سطوح مصرف پایین‌تر (۰/۵ و ۲٪) باعث افزایش عملکرد گردید. محققین علت عدم تأثیر بیوچار بر افـزایش عملکرد را حاصلخیزی ذاتی خاک و کافی نبودن سطح مصـرف بیوچـار گـزارش نمودنـد. جـونز و همکـاران (۲۰۱۲) طی یک آزمایش سه ساله با استفاده از بیوچار چوب نتیجه گرفتند که اسـتفاده از ایـن نـوع بیوچـار در سال اول تأثیر کمی بر عملکرد ذرت داشت و در سال دوم اثر آن بـر عملکـرد کمتـر بـود و در سـال سـوم موجب افزایش عملکرد گردید. بنابراین مصرف بیوچار می‌تواند اثـرات مثبـت و منفـی بـر خصوصـیات خـاک داشته باشد. هرچه خاک کیفیت پایین‌تری داشته باشد (مقدار مواد آلی کمتر و ظرفیـت پـایین‌تـر نگهـداری عناصر غذایی) احتمال تحریک و افزایش عملکرد گیاه بیشتر است. به‌علاوه نـوع بیوچـار نیـز بـر خصوصـیات خاک و عملکرد گیاه اثرگذار است.

فصل سوم

مواد و روش‌ها

۳-۱- مختصات جغرافیایی و شرایط اقلیمی محل اجرای طرح

به منظور ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ‌های شنبلیله به کاربرد بیوچار در رژیم های آبیاری متفاوت آزمایشی در دو مرحله در گلخانه و مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران در شهر کرج (موقعیت جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۹ دقیقه شمالی، ۵۰ درجه و ۷۵ دقیقه شرقی؛ ارتفاع از سطح دریا ۱۳۲۱ متر) در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. در سال اجرای آزمایش مجموع بارندگی و میانگین رطوبت نسبی در طی فصل رشد گیاه زراعی (اردیبهشت، خرداد، تیر، مرداد، شهریور، مهر و آبان) به ترتیب ۹۷/۴ میلی‌متر و ۳۸/۶۳ درصد با بیشترین میزان بارندگی در آبان ماه (۷۷/۴ میلی‌متر) و کمترین میزان بارندگی در مرداد ماه (بدون بارندگی) بود (جدول ۳-۱).

جدول ۳-۱- شرایط آب و هوایی محل اجرای طرح (اردیبهشت لغایت آبان ۹۴)

ماه	حداکثر دما (سلسیوس)	حداقل دما (سلسیوس)	مجموع بارندگی (میلی‌متر)	متوسط رطوبت نسبی (٪)
اردیبهشت	۲۷/۵	۱۲/۴	۲	۳۲/۲
خرداد	۳۴/۲	۱۷/۷	۷/۵	۲۹/۴
تیر	۳۷/۲	۲۰/۸	۲/۶	۲۸/۵
مرداد	۳۶/۳	۲۰/۷	۰	۲۶/۸
شهریور	۳۱	۱۶/۷	۴/۴	۴۲/۴
مهر	۲۵/۹	۱۳/۱	۳/۵	۴۲/۷
آبان	۱۴/۹	۶/۹	۷۷/۴	۶۸/۴

منبع: اداره کل هواشناسی استان البرز

۳-۲- مشخصات خاک مزرعه و گلخانه

قبل از اجرای آزمایش نمونه‌گیری از خاک مزرعه در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری در قطعهٔ آزمایشی موردنظر انجام شد. جدول ۳-۲ نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات شیمیایی و فیزیکی نمونه‌ی خاک مزرعه و گلخانه را نشان می‌دهد. بافت خاک در مزرعه لومی و در گلخانه لومی رسی بود.

جدول ۳-۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد استفاده

	گلخانه	مزرعه
اسیدیته (pH)	۸/۱	۸/۱
هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC ($dS\ m^{-1}$)	۳/۲۴	۲/۴۲
آهک کل (درصد) (TNV)	۶/۸	۸/۷
نیتروژن کل (درصد) (Total N)	۰/۱	۰/۰۵
کربن آلی (درصد) (OC)	۰/۷۹	۰/۳۷
فسفر (میلی‌گرم در کیلوگرم) P ($mg\ kg^{-1}$)	۱۶/۱	۱۱/۴
پتاسیم (میلی‌گرم در کیلوگرم) K ($mg\ kg^{-1}$)	۲۶۱	۱۹۸
سیلت (درصد) (Silt)	۴۰	۳۵
رس (درصد) (Clay)	۳۶	۲۶
شن (درصد) (Sand)	۲۴	۳۹
بافت (Texture)	لومی رسی	لومی

۳-۳- آزمایش گلخانه

به منظور ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ‌های شنبلیله به رژیم‌های آبیاری متفاوت در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار در شرایط گلخانه آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران در شهر کرج اجرا گردید. ۶ اکوتیپ پاکوتاه شنبلیله (۱-دزفول، ۲-شوشتر، ۳-اردستان، ۴-رهنان، ۵-یزد، ۶-خمینی‌شهر)، ۲ سطح بیوچار (عدم کاربرد و کاربرد به میزان ۸-۷ درصد وزن حجمی خاک) و ۲ سطح آبیاری (آبیاری بر اساس ۹۰-۷۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان آبیاری نرمال و ۵۰-۳۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان تنش خشکی) بدین منظور در نظر گرفته شدند. اکوتیپ‌های شنبلیله از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و ۶ اکوتیپ پاکوتاه فوق برای این آزمایش انتخاب شدند.

ماده‌ی آلی اولیه جهت تهیه بیوچار در این آزمایش سبوس برنج در نظر گرفته شد و بیوچار آن از حرارت غیرمستقیم سبوس برنج در کوره در دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود تولید شد که

به میزان ۸-۷ درصد وزن خاک مخلوط با خاک گلدان مورد استفاده قرار گرفت. قبل از اجرای آزمایش خصوصیات خاک و بیوچار تهیه شده تعیین شد (جدول ۳-۲ و ۳-۳). تیمار تنش پس از محاسبه ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی از مرحله‌ی ۵۰ درصد گلدهی اعمال شد.

هر گلدان آزمایشی حاوی ۳ کیلوگرم خاک بسته به تیمار آزمایشی مخلوط با بیوچار یا بدون بیوچار بود. میزان ۱۰ درصد پرلیت به جهت هوادهی بهتر به تمام گلدان‌ها اضافه شد. در هر گلدان ۱۵-۱۰ بذر از اکوتیپ موردنظر در تاریخ ۱۰ اردیبهشت ماه کاشته شد و در زمان مناسب (استقرار گیاهچه‌ها) تعداد گیاهچه‌ها به ۵ عدد کاهش یافت. تمام بوته‌ها به‌منظور اندازه‌گیری صفات مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش در بازه‌ی زمانی ۱۰ اردیبهشت ماه تا ۱۰ آبان ماه به طول انجامید. پس از اتمام دوره‌ی رشد گیاه صفات موردنظر اندازه‌گیری شد.

هدف از انجام آزمایش در شرایط گلخانه، بررسی کشت گیاهان دارویی در شرایط گلخانه به منظور توسعه‌ی کشت گلخانه‌ای این گیاهان و همچنین بررسی دقیق‌تر تغییرات ترکیبات دارویی موجود در بذر تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در شرایط کنترل شده‌ی گلخانه بود.

شکل ۳-۱. آزمایش گلخانه‌ای

۳-۴- آزمایش مزرعه

به منظور ارزیابی اکوفیزیولوژیکی پاسخ اکوتیپ‌های شنبلیله به تنش خشکی آخر فصل در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار در شرایط مزرعه آزمایشی به‌صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (آبیاری به‌عنوان کرت اصلی و ترکیبات بیوچار و اکوتیپ به عنوان کرت فرعی) با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران در شهر کرج اجرا گردید. ۶ اکوتیپ پاکوتاه شنبلیله (۱- دزفول، ۲- شوشتر، ۳- اردستان، ۴- رهنان ، ۵- یزد، ۶- خمینی‌شهر)، ۲ سطح بیوچار (عدم کاربرد و کاربرد به میزان ۸-۷ درصد وزن حجمی خاک تا عمق ۳۰ سانتی‌متر) و ۲ سطح آبیاری (آبیاری کامل و افزایش دور آبیاری از ۵۰ درصد گلدهی به‌عنوان تنش خشکی) بدین منظور در نظر گرفته شدند.

ماده‌ی آلی اولیه جهت تهیه بیوچار در این آزمایش سبوس برنج در نظر گرفته شد و بیوچار آن از حرارت غیرمستقیم سبوس برنج در کوره در دانشکده ی کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود تولید شد که به میزان ۸-۷ درصد وزن حجمی خاک در ردیف‌های کاشت و در عمق حدود ۵ سانتی‌متر زیر بذر مورد استفاده قرار گرفت. قبل از اجرای آزمایش خصوصیات خاک مزرعه و بیوچار تعیین شد (جدول ۳-۲ و ۳-۳). تیمار تنش با افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز از مرحله ۵۰ درصد گلدهی اعمال شد. آزمایش در بازه‌ی زمانی ۲۰ اردیبهشت ماه تا ۲۰ آبان ماه به طول انجامید. هر کرت آزمایشی شامل ۴ خط ۴ متری با فاصله خطوط ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته روی خط ۴ سانتی‌متر بود که ۲ خط کناری به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و ۲ خط میانی آن برای نمونه‌برداری مورد استفاده قرار گرفتند. ۱۰ بوته از هر کرت آزمایشی جهت نمونه‌برداری و بررسی صفات استفاده شد (۵ بوته از هر خط).

۳-۴-۱- آماده‌سازی زمین و اجرای آزمایش

در آزمایش مزرعه‌ای، زمینی به ابعاد ۵۹ در ۳۶ متر (بـه مسـاحت ۲۱۲۴ مترمربـع) موردنیـاز بـود. قبل از اجرای آزمایش، در زمان مناسب زمین به‌وسیله گاوآهن برگـردان دار شـخم زده شـد و جهـت خـرد شدن کلوخ‌ها و همچنین یکنواخت شدن وضـعیت خـاک مزرعـه، زمـین مـذکور دیسـک و مالـه زده شـد. نمونه‌گیری از خاک مزرعه انجام شد. سپس جوی و پشته‌ها و کرت‌های آزمایشی ایجاد گردید.

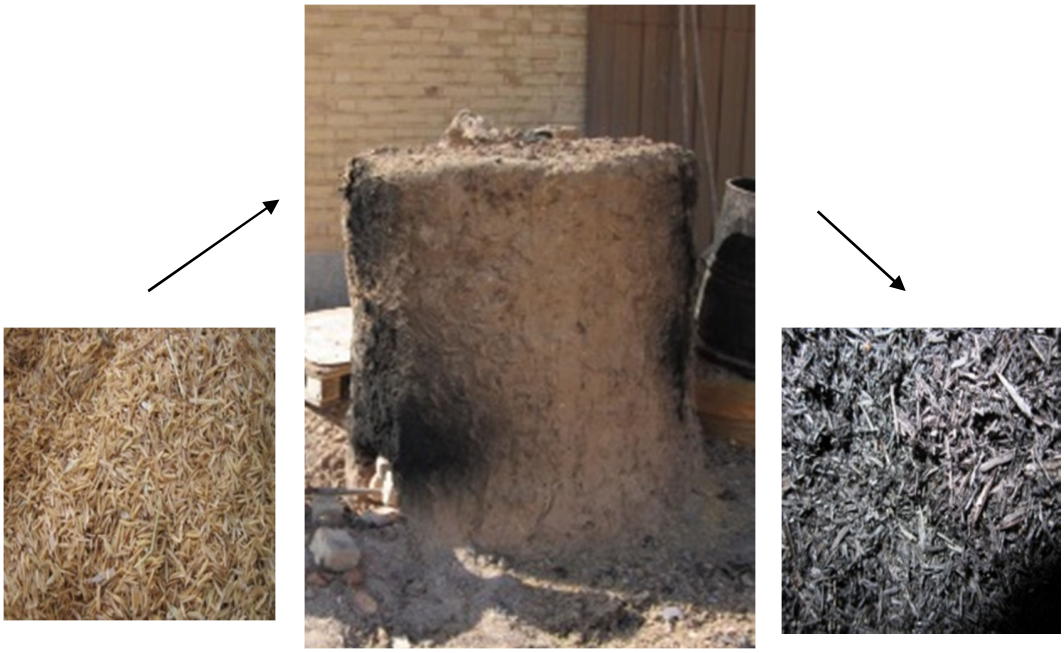
شکل ۳-۲. مراحل آماده‌سازی تا رسیدگی

۳-۵- تهیه و استفاده از بیوچار

ماده‌ی آلی اولیه جهت تهیه بیوچار در این آزمایش سبوس برنج در نظر گرفته شد کـه بیوچـار آن از حرارت غیرمستقیم سبوس برنج در کوره در دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه صـنعتی شـاهرود تولیـد شـد (دما: ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد). میزان بیوچار توصیه‌شده مخلوط با خاک گلدان و یا در ردیـف‌هـای کاشـت و در عمق حدود ۵ سانتی‌متر زیر بذر مورد استفاده قرار گرفت. به‌وسیله فوکا شیاری بـر روی خطـوط کشـت

ایجاد و بیوچار در آن ریخته شد. سپس بیوچار با لایه‌ای از خاک پوشانده و بذور بـر روی آنهـا کشـت شـد.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیوچار مورد بررسی در جدول ۳-۳ نشان داده شده است.



شکل ۳-۳- تهیه بیوچار

جدول ۳-۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیوچار مورد استفاده

	بیوچار (Biochar)
اسیدیته (pH) (۱:۵)	۷/۸
هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC ($dS\ m^{-1}$)	۲/۲
آهک کل (درصد) (TNV)	۵/۱
نیتروژن کل (درصد) (Total N)	۰/۷۹
کربن آلی (درصد) (OC)	۸/۴۳
فسفر (درصد) (P)	۰/۱۳
پتاسیم (درصد) (K)	۰/۸۴
کلسیم (درصد) (Ca)	۰/۵
سدیم (درصد) (Na)	۰/۰۹
منیزیم (درصد) (Mg)	۱/۰۳

۳-۶- کاشت، داشت، برداشت

کاشت در اردیبهشت ماه در هر دو آزمایش (گلخانه و مزرعه) صورت گرفت. آبیاری تا مرحله ۵۰ درصد گلدهی به‌طور معمول و با توجه به نیاز گیاهان صورت گرفت و پس از آن با توجه به تیمار تنش خشکی در گلخانه به روش وزنی و در مزرعه با اعمال دور آبیاری انجام شد. پس از اجرای آزمایش مطابق نقشه کاشت و سبز شدن و استقرار گیاهچه، عملیات داشت نظیر مبارزه با علف‌های هرز و سم‌پاشی جهت مبارزه با آفات موجود صورت گرفت. مبارزه با علف‌های هرز در مزرعه به‌صورت دستی توسط کارگر انجام شد. همچنین در آزمایش گلخانه برای کنترل تریپس از حشره‌کش تیاکلوپرید[1] ۲۴ درصد دو بار و هر بار به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر در هزار لیتر استفاده شد.

۳-۷- نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات

صفات مورد اندازه گیری شامل صفات مورفولوژیک (تعداد شاخه اصلی و فرعی در بوته، ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه)، عملکرد دانه، میزان کلروفیل کل برگ، آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز برگ، پروتئین کل دانه، قند کل دانه، روغن کل دانه، ترکیبات دارویی تریگونلین و دیاسژنین دانه و همچنین میزان تنفس خاک بود.

ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و تعداد شاخه اصلی و فرعی در گلخانه در تمام ۵ بوته در گلدان و در مزرعه در ۱۰ بوته از هر کرت آزمایشی (انتخاب تصادفی) با رعایت اثر حاشیه‌ای از دو خط میانی تعیین شدند. وزن صد دانه (بر حسب گرم) از توزین صد عدد بذر سالم و بدون شکستگی به دست آمد. عملکرد دانه در گلخانه به صورت میانگین وزن دانه در بوته تعیین شد. جهت اندازه‌گیری

[1] Thiacloprid

عملکرد دانه در مزرعه، دانه‌های حاصل از هر اکوتیپ پس از رسیدن دانه و حذف اثرات حاشیه‌ای (حذف نیم متر از ابتدا و انتهای هر کرت و نیز دو خط کناری کرت) برداشت و بوجاری و سپس توزین شدند.

۳-۷-۱- استخراج و سنجش کلروفیل

استخراج کلروفیل برگ با استفاده از استن[1] ۸۰ درصد و اندازه‌گیری آن با استفاده از روش تغییر یافته آرنون (۱۹۴۹) انجام شد. برای این منظور به ۰/۰۳ گرم برگ پودر شده (خشک‌شده در فریز درایر) مقدار ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد اضافه شد و حدود ۱۵ دقیقه ورتکس شد. عصاره بدست آمده به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در دور ۷۰۰۰ سانتریفیوژ شد. تمامی مراحل استخراج کلروفیل در دمای ۴ درجه و نور کم انجام شد. سپس، میزان جذب نوری محلول به دست آمده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary 300, USA) در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ قرائت گردید. غلظت کلروفیل کل براساس رابطه زیر تعیین گردید. در رابطه‌ی زیر V حجم نمونه استخراج شده و W وزن نمونه می‌باشد.

$$C_t(m\square/\quad FW) = \frac{(20.2A_{645} + 8.02A_{663}) \times V}{1000 \times W}$$

۳-۷-۲- اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و پراکسیداز) و پروتئین کل

جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروتئین کل بافرهای زیر تهیه شد:

۱- بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷). pH بافر باید بدون افزودن HCl و NaOH، بلکه با استفاده از دو فرم اسیدی KH_2PO_4 و بازی K_2HPO_4 فسفات پتاسیم تنظیم شود. برای تهیه این بافر نیز ابتدا دو بافر زیر تهیه شد:

[1] Acetone

الف) بافر مونوفسفات پتاسیم: ۲۷/۲ گرم KH_2PO_4 (MW:136.09) در یک لیتر آب به حجم رسید.

ب) بافر دی فسفات پتاسیم: ۳۴/۸ گرم K_2HPO_4 (MW:174.18) در یک لیتر آب به حجم رسید.

سپس، برای تهیه بافر ۱۰۰ میلی‌مولار، ۳۹ میلی‌لیتر از بافر مونوفسفات پتاسیم با ۶۱ میلی‌لیتر از بافر دی فسفات پتاسیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل گردید.

۲- بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (PH = ۷) و سدیم متابای سولفیت یک میلی‌مولار.

برای تهیه این بافر نیز ابتدا دو بافر زیر تهیه شد:

الف) بافر مونوفسفات پتاسیم: ۱۳/۶ گرم KH2PO4 (MW:136.09) در یک لیتر آب به حجم رسید.

ب) بافر دی فسفات پتاسیم: ۱۷/۴ گرم K2HPO4 (MW:174.18) در یک لیتر آب به حجم رسید.

پس از تهیه این دو بافر، برای تهیه بافر ۵۰ میلی‌مولار، ۳۹ میلی‌لیتر از بافر مونوفسفات پتاسیم با ۶۱ میلی‌لیتر از بافر دی فسفات پتاسیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل شد. پس از تنظیم pH، ۰/۰۳۸گرم سدیم متابای سولفیت به بافر ۵۰ میلی‌مولار اضافه گردید.

۳- پلی وینیل پیرولیدین (PVP)[1] (۰/۰۵ گرم به ازای هر نمونه تر یا ۰/۰۳ گرم به ازای هر نمونه فریزدرایر شده). PVP به سختی در آب حل می‌شود بنابراین مقدار بافر ۵۰ میلی‌مولار مورد نیاز محاسبه و به همان نسبت PVP به بافر اضافه و روی استیرر قرار داده شد تا به‌طور کامل در بافر حل شود.

استخراج و سنجش پروتئین به این صورت انجام شد که ۰/۰۳ گرم ماده گیاهی توزین و ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷) حاوی سدیم متابای سولفیت یک میلی‌مولار و PVP اضافه شد و نمونه در حدود ۱۰ دقیقه ورتکس شد. نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۳۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. از این عصاره برای تعیین غلظت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز استفاده می‌گردد.

---

[1] Polyvinylpyrrolidone

مقدار پروتئین کل به روش بردفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. براساس این روش ابتدا دو محلول پایه و اصلی زیر تهیه شد:

۱- محلول بردفورد ۲۰٪ (v/v) و ۲- محلول‌های استاندارد.

برای تهیه معرف بردفورد، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو G250 در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد. دست کم یک ساعت عمل هم‌زدن به‌منظور حل‌شدن کامل انجام شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۸۵ درصد قطره‌قطره به محلول اضافه و حجم محلول کل با کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. سپس محلول از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد.

برای تهیه استانداردهای پروتئینی از پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA)[1] با غلظت ۱ میکروگرم بر میکرولیتر استفاده شد. بدین منظور ۱۰ میلی‌گرم ماده‌ی آلبومین گاوی در یک میلی‌لیتر بافر استخراج حل و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد (استوک استاندارد ppm ۱۰۰۰). از استوک مذکور مقادیر ۰/۱، ۰/۲، .....، ۰/۹، ۱ میلی‌لیتر برداشته و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد تا استانداردهای ppm ۱۰، ۲۰،....، ۹۰ و ۱۰۰ تهیه شود. جهت اندازه‌گیری میزان غلظت پروتئین نمونه‌های گیاهی با استفاده از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی منحنی استاندارد رسم شد. به این ترتیب که میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های فوق با یک میلی‌لیتر معرف بردفورد ۲۰٪ (v/v) در داخل کیووت شیشه‌ای مخلوط گردیده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از این مدت، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر قرائت شد. بعد از تهیه منحنی استاندارد، ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های عصاره آنزیمی با یک میلی‌لیتر معرف بردفورد ۲۰٪ (v/v) مخلوط گردید و بعد از پنج دقیقه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد.

[1] Bovine serum albumin

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۱- بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷) به میزان ۲۵۰ میکرولیتر، ۲- آب مقطر استریل به میزان ۵۰۰ میکرولیتر و ۳- H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷) به میزان ۲۵۰ میکرولیتر (۶۰ میکرولیتر H_2O_2 در ۱۰ میلی‌لیتر بافر ۱۰۰ میلی‌مولار فسفات پتاسیم به حجم رسانده شد). ابتدا مخلوط در یک کیووت کوارتز ۱ میلی‌لیتری ریخته شد و بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر بلنک گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به آن اضافه شده و منحنی فعالیت آنزیم کاتالاز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه و بر حسب Abs/min ترسیم شد.

آنزیم کاتالاز بدون نیاز به عامل احیاءکننده H_2O_2 را به O_2 و H_2O تبدیل می‌کند. حداکثر جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت می‌گیرد. از این رو، با آغاز واکنش بوسیله آنزیم کاتالاز به تدریج از میزان پراکسید هیدروژن در مخلوط واکنش کم و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر نیز کاهش می‌یابد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد:

$$Activity\ (U\ ml^{-1}) = \frac{\Delta\ A240 \times l \times Vt \times df}{\varepsilon \times l^{*} \times t \times Vs}$$

U: واحد آنزیمی، Δ A240: تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش، l: با توجه به ضریب پراکسید هیدروژن در معادله تعیین می‌گردد (معادل ۲)، Vt: حجم مخلوط واکنش، df: فاکتور رقیق‌کننده، t: مدت زمان واکنش (۱۸۰ ثانیه)، Vs: حجم نمونه، ε: ضریب خاموشی برابر $mM^{-1}cm^{-1}$ ۳۹/۴ و l*: طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش که برابر یک می‌باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چانس و مهلی (۱۹۵۵) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر ۱- فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷) به میزان ۲۵۰ میکرولیتر، ۲- گوئیکول[1] ۱۰ میلی‌مولار محلول در آب دوبار تقطیر به میزان ۲۵۰ میکرولیتر (۵۶ میکرولیتر گوئیکول بوسیله آب دوبار تقطیر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد)، ۳- H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (۷ = pH) به میزان ۳۴ میکرولیتر (۶۰ میکرولیتر بوسیله بافر ۱۰۰ میلی‌مولار فسفات پتاسیم به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد) و ۴- آب دوبار تقطیر استریل شده به میزان ۴۶۶ میکرولیتر. مخلوط واکنش بالا به اضافه ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در یک کیووت شیشه‌ای ۱ میلی‌لیتری ریخته شده و با قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. از مخلوط واکنش بالا بدون عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده شد.

آنزیم پراکسیداز با استفاده از ترکیبات فنلی گوئیکول به‌عنوان دهنده الکترون پراکسید هیدروژن را به آب احیاء می‌کند. در اثر این عمل، گوئیکول به تتراگوئیکول تبدیل می‌شود. حداکثر جذب تتراگوئیکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر صورت می‌گیرد. از این رو با آغاز واکنش بوسیله آنزیم پراکسیداز به تدریج بر میزان تتراگوئیکول در مخلوط واکنش افزوده می‌شود و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر نیز افزایش می‌یابد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از رابطه زیر و با ضریب خاموشی تتراگوئیکول= $mM^{-1}cm^{-1}$ ۲۶/۶ و ۴ = l محاسبه شد:

$$Activity\ (U\ ml^{-1}) = \frac{\Delta\ A470 \times l \times Vt \times df}{\varepsilon \times l^{*} \times t \times Vs}$$

[1] Guaiacol

۳-۷-۳- اندازه‌گیری قند محلول کل

اندازه‌گیری قندهای محلول کل به روش فنل- اسیدسولفوریک بر اساس روش تغییر یافته اشلیکل (۱۹۸۶) انجام شد. محلول‌ها و مواد موردنیاز به شرح زیر آماده‌سازی شد: ۱- محلول ۵٪ سولفات روی (۵ گرم پودر سولفات روی در آب مقطر حل و حجم نهایی به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) ۲- محلول هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال (۴/۷۲۵ گرم پودر هیدروکسید باریوم در آب مقطر حل و حجم نهایی به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) ۳- محلول ۵٪ فنل (مقدار ۵ گرم پودر فنل در آب مقطر حل و حجم نهایی به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۴- اتانول ۸۰٪ ۵- اسیدسولفوریک خالص ۶- گلوکز خالص جهت تهیه محلول‌های استاندارد (برای تهیه استاندارد ppm ۱۰۰۰ (میلی‌گرم در لیتر) در بالن حجمی مقدار ۰/۱۰۰ گرم پودر گلوکز خالص را در آب مقطر حل نموده و حجم نهایی به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تهیه استانداردهای ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، به‌ترتیب مقدار صفر، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر از استوک ppm ۱۰۰۰ تهیه شده در مرحله قبل در بالن‌های حجمی به‌کمک آب مقطر به حجم نهایی ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد).

بعد از تهیه محلول‌های مورد نیاز، ۰/۰۳ گرم بذر پودر شده به ویال ۲ میلی‌لیتری منتقل و مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ داغ به ویال اضافه و پس از محکم نمودن درب ویال، به مدت ۵ دقیقه ورتکس گردید. سپس، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ و محلول رویی به فالکون ۱۵ میلی‌لیتر انتقال داده شد. این کار سه با تکرار شد تا تمامی قندهای محلول موجود در نمونه گیاهی حتی‌الامکان استخراج گردد. فالکن ۱۵ میلی‌لیتری حاوی اتانول در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا در مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت اتانول موجود در فالکن تبخیر گردد. پس از تبخیر کامل اتانول، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به فالکن اضافه شد، درب فالکن بسته و به مدت ۵-۲ دقیقه ورتکس شد تا رسوبات چسبیده به جداره فالکن در آب حل شود. به‌منظور حذف رسوبات اضافی و

دیگر ترکیبات زائد، ۴۷۰ میکرولیتر از محلول هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از محلول سولفات روی ۵٪ به فالکن اضافه و دوباره ورتکس شد. فالکن با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی به یک فالکن ۱۵ میلی‌لیتری دیگر منتقل شد. آنگاه ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی موجود در فالن جدید به یک ویال ۲ میلی‌لیتر جدید منتقل شد.

۵۰۰ میکرولیتر از هر یک از ۸ محلول استاندارد گلوکز نیز به ویال‌های ۲ میلی‌لیتر منتقل شدند. سپس، به ویال‌های ۲ میلی‌لیتری نمونه‌ها و نیز هر یک از ویال‌های استاندارد گلوکز (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm)، مقدار ۲۵۰ میکرولیتر محلول فنل ۵٪ اضافه گردید. مقدار ۱۲۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۹۸٪، داخل ویال با فشار اضافه شد. در صورت وجود قند محلول در نمونه و با توجه به میزان قند، محتوای فالکن در این مرحله به رنگ نارنجی روشن تا قهوه‌ای پررنگ متمایل می‌گردد. پس از گذشت ۴۵ دقیقه با تثبیت رنگ، توأم با خنک شدن فالکن در دمای اتاق، مقدار جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد. از آنجا که در تهیه محلول‌های استاندارد، غلظت به صورت میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته می‌شود و با توجه به استفاده از ۰/۰۳ گرم ماده خشک، از فرمول زیر برای اندازه‌گیری میزان قند محلول بر حسب واحد میلی‌گرم در گرم وزن خشک استفاده شد.

$$E = \frac{C \times 2}{W * 1000}$$

که در آن E: مقدار قند نمونه بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک بود. C: غلظت نمونه بر حسب میلی‌گرم در لیتر و W : وزن ماده خشک بر حسب گرم بود (حسیبی، ۱۳۸۶).

۳-۷- ۴- اندازه‌گیری روغن

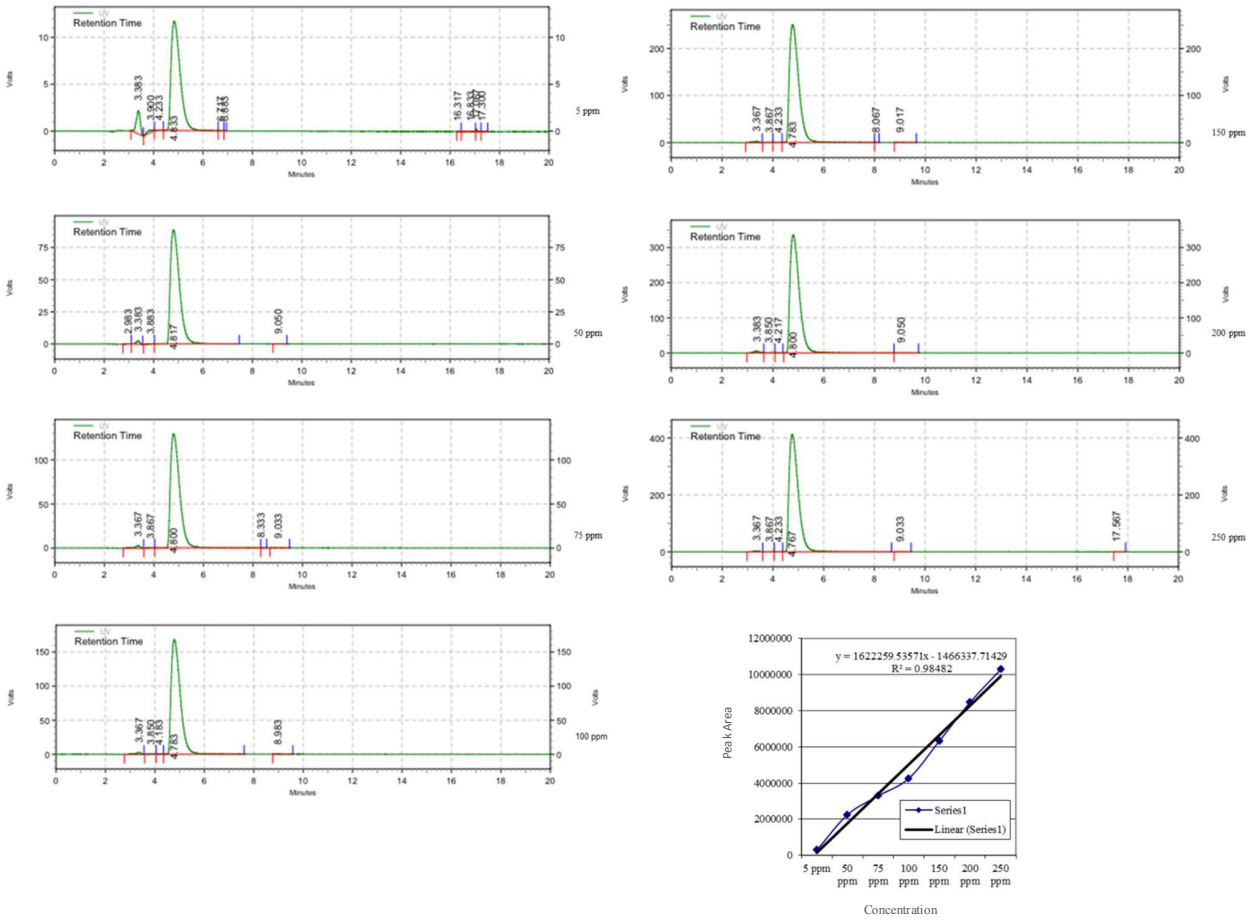
به نسبت۲۰ میلی لیتر به ۳ گرم، پترولیوم اتر بر روی نمونه های بذر پودر شده و بسته بندی شده در کاغذ صافی ریخته شد و نمونه ها در داخل بن‌ماری شیکردار در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به

مدت ۵-۴ ساعت قرار داده شد. محلول رویی درون فالکن جدید ریخته شد و زیر هود قرار گرفت تا پترولیوم اتر تبخیر گردد. به منظور استخراج کامل روغن این مرحله این دو بار تکرار شد. روغن استخراج شده از بذر ته فالکن باقی ماند. برای محاسبه میزان روغن بسته‌های حاوی نمونه‌های پودر شده بذر، پس از استخراج روغن و خشک شدن نمونه اختلاف وزن نمونه روغن‌گیری شده و وزن نمونه اولیه محاسبه شد (روی و همکاران، ۲۰۰۷).

۳-۷- ۵- اندازه‌گیری ترکیبات دارویی (تریگونلین و دیاسژنین)

تریگونلین به روش شایلاجان و همکاران (۲۰۱۱) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد. به‌منظور استخراج تریگونلین موجود در بذر طبق این روش ۲/۵ میلی‌لیتر متانول خالص به نیم گرم از پودر ساییده شدهٔ بذر شنبلیله اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۲۲ ساعت با دور ۱۶۰ rpm در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شیکر قرار گرفت. سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا و در یخچال نگهداری و مراحل فوق برای رسوب باقی‌مانده به منظور استخراج کامل تریگونلین، مجدداً تکرار و محلول رویی حاصل از مرحله دوم به محلول اول اضافه شد. محلول حاصل تا زمان تغلیظ کامل در کانسنتریتور (Rotary Concentrator Plus, Eppendorf, Germany) قرار داده شد. در زمان اندازه‌گیری تریگونلین، ۱ میلی‌لیتر متانول خالص به نمونه اضافه و پس از ورتکس و حل شدن کامل نمونه در متانول، محلول حاصل از فیلتر سر سرنگی (13 mm, Millipore Filters) عبور و به‌صورت دستی به دستگاه HPLC تزریق شد. محلول به‌دست‌آمده توسط دستگاه HPLC (Knauer, Germany) با استفاده از ستون C18 (5 µm, 4×250 mm) و دتکتور UV/Vis (K2300, Germany) و حلال متانول ۹۵ درصد (HPLC grade) در شدت جریان یک میلی‌لیتر

در دقیقه تجزیه و غلظت تریگونلین با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد این ماده تعیین شد. طول موج و زمان بازداری به‌ترتیب ۲۶۷ نانومتر و ۲۰ دقیقه بود.



شکل ۳-۴. منحنی کالیبراسیون و کروماتوگرام‌های به‌دست آمده از غلظت های مختلف استاندارد تریگونلین

دیاسژنین با استفاده از روش خاکیمو و همکاران (۲۰۱۶) استخراج و اندازه گیری شد. به منظور استخراج دیاسژنین موجود در بذر طبق این روش، ۱ میلی لیتر متانول ۸۰٪ به ۲/۵ میلی گرم از پودر ساییده شده ی بذر شنبلیله اضافه و به مدت ۱ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۱ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از اتمام این مرحله و رسیدن دمای مخلوط به دمای محیط، مخلوط

مجددا ورتکس و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر کلرید هیدروژن ۲ مولار به ۳۵۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانترفیوژ مخلوط اضافه و به مدت ۱ دقیقه ورتکس و به دنبال آن به مدت ۱/۵ ساعت با دور ۷۰۰ rpm در دمای ۹۹ درجه سانتی گراد در ترمومیکسیر قرار داده شد. پس از اتمام این مرحله و رسیدن دمای محلول به دمای محیط، ۴ میلی لیتر اتیل استات به آن اضافه و به مدت نیم دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. اتیل استات جدا و مرحله فوق برای رسوب باقی مانده مجددا ۲ مرتبه تکرار و اتیل استات حاصل از مرحله دوم و سوم به محلول اول اضافه شد. با قرار دادن محلول در زیر هود و به دنبال آن قرار دادن در کانسنتریتور به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد اتیل استات کاملا تبخیر شد. در زمان اندازه گیری دیاسژنین، ۴۰۰ میکرولیتر اتیل استات به نمونه اضافه و پس از ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد.۱۰۰ میکرولیتر از محلول به ظروف مخصوص دستگاه GC-MS منتقل و مجددا در کانسنتریتور به مدت ۲/۵ ساعت با دور ۱۰۰۰ rpm در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد جهت خشک شدن کامل نمونه قرار داده شد. دیاسژنین موجود در نمونه ها توسط دستگاه GC-MS با استفاده از غلظت های مختلف استاندارد این ماده تعیین شد. ترکیب در دقیقه ی ۲۷ بازداری شد.

به دلیل هزینه‌ی بالای اندازه گیری ترکیب دیاسژنین، تنها ۲ اکوتیپ از ۶ اکوتیپ مورد بررسی در تحقیق حاضر بدین منظور در نظر گرفته شدند. بر اساس اثر ساده اکوتیپ بر عملکرد در هر آزمایش، بهترین و بدترین اکوتیپ ها از نظر عملکرد انتخاب و میزان دیاسژنین تنها در این اکوتیپ ها اندازه‌گیری گردید. اکوتیپ رهنان و دزفول در شرایط گلخانه و اکوتیپ های رهنان و شوشتر در شرایط مزرعه به ترتیب دارای بیشترین و کمترین عملکرد بوده و مورد بررسی قرار گرفتند.

۳-۷-۶- اندازه گیری تنفس خاک

برای اندازه گیری تنفس پایه خاک، نمونه های خاک در ظروف بسته در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. مقدار دی اکسید کربن تولیدی در مدت زمان ۲۴ ساعت توسط محلول هیدروکسید سدیم جذب شد و به وسیله تیتراسیون با محلول اسید هیدروکلریک تعیین گردید (علی‌اصغرزاده، ۱۳۸۵). در این آزمایش پس از خارج کردن نمونه های خاک از یخچال، ابتدا ۲۵ گرم خاک مرطوب توزین و در داخل ظرف بزرگتری قرار داده شد. سپس با اضافه کردن ۲۰ میلی لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار در ظرف کوچکتر دیگری و قرار دادن آن در داخل ظرف بزرگتر حاوی نمونه، درب آن محکم بسته شد. ظروف به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. پس از گذشت مدت زمان لازم، ابتدا دو میلی لیتر از محلول کلرید باریم نیم مولار به محلول هیدروکسید سدیم اضافه شد تا دی اکسید کربن جذب شده به صورت کربنات باریم رسوب نماید. سپس با اضافه کردن ۳ قطره از معرف فنل فتالئین و ایجاد رنگ صورتی، عمل تیتراسیون با محلول اسید هیدروکلریک ۰/۱ مولار انجام شد تا رنگ محلول سفید شد. میزان مصرف اسید یادداشت گردید و برای نمونه شاهد نیز همه این مراحل انجام شد. برای محاسبه تنفس پایه خاک از معادله زیر استفاده شد (علی‌اصغرزاده، ۱۳۸۵):

$$\text{تنفس پایه خاک} = [(C - S) \times ۲/۲ \times ۱۰۰ / SW \times \% dm]$$

C میانگین حجم اسید هیدروکلریک مصرفی به وسیله شاهد(میلی لیتر)، S میانگین حجم اسید هیدروکلریک مصرفی به وسیله نمونه ها (میلی لیتر)، ۲/۲ فاکتور تبدیل (یک میلی لیتر از اسید هیدروکلریک ۰/۱ مولار معادل ۲/۲ میلی گرم دی اکسید کربن می باشد)، SW وزن خاک (گرم) و % dm /۱۰۰ فاکتور تبدیل برای خاک خشک می باشد.

۳-۸- تعیین کیفیت بیوچار تهیه‌شده- آزمایش گلخانه‌ای

در راستای بررسی کیفیت بیوچار سبوس برنج مورد استفاده در طرح رساله که در دانشگاه صنعتی شاهرود تهیه شده بود آزمایشی مجزا در بخش علوم زراعی دانشگاه کپنهاگ، دانمارک در سال ۱۳۹۶ انجام شد. بدین منظور آزمایش گلخانه‌ای شامل ۱ اکوتیپ شنبلیله (کرمانشاه)، ۵ سطح بیوچار (۱- عدم کاربرد بیوچار، ۲- کاربرد بیوچار سبوس برنج تهیه‌شده در دانشگاه صنعتی شاهرود، ۳- کاربرد بیوچار استاندارد سبوس برنج ، ۴- کاربرد بیوچار استاندارد کاه و کلش گندم، ۵- کاربرد بیوچار استاندارد کاه و کلش کلزا) و دو سطح آبیاری (آبیاری بر اساس ۹۰-۷۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان آبیاری نرمال و آبیاری بر اساس ۴۵-۳۵ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان تنش خشکی) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار اجرا شد. بیوچارهای استاندارد از مرکز تحقیقات بیوچار در دانشگاه ادینبورگ، اسکاتلند[1] تهیه و به میزان ۲ درصد وزن حجمی خاک به‌صورت مخلوط با خاک گلدان مورد استفاده قرار گرفت. تیمار تنش پس از محاسبه‌ی ظرفیت زراعی به روش وزنی از مرحله ۵۰ درصد گلدهی اعمال شد. هر گلدان آزمایشی حاوی ۲ کیلوگرم خاک بسته به تیمار آزمایشی مخلوط با بیوچار یا بدون بیوچار بود. قبل از اجرای آزمایش خصوصیات خاک مورد استفاده تعیین شد. در هر گلدان ۱۰-۷ بذر در تاریخ ۲۰ مرداد ماه کاشته شد و در زمان مناسب (استقرار گیاهچه‌ها) تعداد گیاهچه‌ها به ۴ عدد کاهش یافت. تمام بوته‌ها به منظور اندازه‌گیری صفات مورد استفاده قرار گرفتند. این آزمایشات در بازه‌ی زمانی ۲۰ مرداد ماه ۱۳۹۵ تا ۲ آذر ۱۳۹۵ به طول انجامید. صفات مورد اندازه‌گیری شامل ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، طول غلاف، وزن خشک بوته، وزن صد دانه و میانگین وزن دانه در بوته بودند.

[1] UK Biochar Research Centre (https://www.biochar.ac.uk/)

۳-۹- تجزیه‌وتحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها ابتدا آزمایش نرمال بودن توزیع داده‌ها انجام شد. آزمون نرمال بودن داده‌ها نشان داد که داده‌های آزمایشی در کلیه صفات مورد مطالعه دارای توزیع نرمال بود و نیاز به تبدیل داده‌ها نمی باشد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری (9.2) SAS و مقایسه میانگین اثرات اصلی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد انجام شد. در صورت معنی دار بودن اثرات متقابل برش دهی و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون lsmeans صورت گرفت. برای رسم شکل نیز از برنامه Excel استفاده شد.

فصل چهارم

نتایج و بحث

۴-۱- آزمایش گلخانه

۴-۱-۱- ارتفاع بوته

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل آبیاری×اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بر روی ارتفاع بوته معنی‌دار بود؛ با این وجود اثرات متقابل دوگانه آبیاری×بیوچار و بیوچار×اکوتیپ و همچنین اثر متقابل سه‌گانه آبیاری×بیوچار×اکوتیپ بر روی ارتفاع بوته معنی‌دار نبود (جدول ۴-۱). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش برش‌دهی، تنش خشکی میانگین ارتفاع بوته را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۱۷/۷۴، ۱۴/۸۲، ۲۱/۹۲، ۸/۸، ۲۶/۹۲، و ۲۸/۵۶ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش داد (شکل ۴-۱). به نظر می‌رسد اکوتیپ رهنان متحمل‌ترین اکوتیپ در بین توده‌های شنبلیله بوده و کمترین میزان کاهش ارتفاع بوته (۸/۸ درصد) را در این بین داشته است.

شکل ۴-۱. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

جدول ۴-۱. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط گلخانه

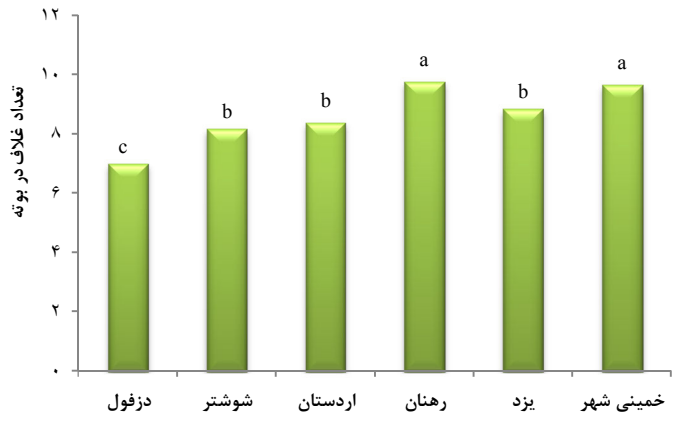
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		وزن دانه در بوته	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن صد دانه	ارتفاع بوته	تعداد شاخه اصلی	تعداد شاخه فرعی	میزان تنفس خاک
آبیاری	۱	۲۱/۶۱**	۲۲۵/۷۰**	۲۰۰/۰۰**	۳/۷۰**	۹۸۲/۴۲**	۲۱/۵۶**	۶۱/۶۰**	۰/۱۵**
بیوچار	۱	۱/۴۴**	۴۱/۰۸**	۳۸/۱۳**	۱/۴۵**	۰/۱۷^{ns}	۴/۲۰**	۱۴/۴۰**	۰/۰۶**
اکوتیپ	۵	۱/۰۶**	۱۷/۴۳**	۹۵/۴۵**	۰/۳۴**	۴۶/۰۷**	۲/۲۱**	۴/۹۹**	۰/۰۰۰۱^{ns}
آبیاری× بیوچار	۱	۰/۴۱**	۱/۳۰^{ns}	۱/۷۴^{ns}	۰/۰۷۳*	۱۳/۶۴^{ns}	۶/۱۲**	۰/۹۳*	۰/۰۰۰۱^{ns}
بیوچار× اکوتیپ	۵	۰/۰۶*	۱/۵۴^{ns}	۰/۱۰^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۸/۲۹^{ns}	۰/۲۰*	۰/۱۴^{ns}	۰/۰۰۰۵^{ns}
آبیاری× اکوتیپ	۵	۰/۱۴**	۱/۲۷^{ns}	۱/۲۳^{ns}	۰/۰۵۲**	۲۵/۸۹*	۱/۹۱**	۰/۶۵**	۰/۰۰۰۱^{ns}
آبیاری× بیوچار× اکوتیپ	۵	۰/۰۱^{ns}	۰/۹۸^{ns}	۰/۶۳^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}	۴/۱۷^{ns}	۰/۱۵^{ns}	۰/۱۱^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}
خطا	۷۲	۰/۰۲	۱/۱۷	۰/۶۷	۰/۰۱۴	۹/۰۵	۰/۰۸	۰/۱۶	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۸/۸۶	۱۲/۵۶	۶/۱۴	۱۰/۵۴	۹/۰۵	۱۷/۳۴	۹/۰۶	۴/۱۰

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						درجه آزادی	میانگین مربعات
		کلروفیل کل	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز	پروتین کل دانه	قند کل دانه	روغن کل دانه	تریگونلین دانه	دیاسژنین دانه
آبیاری	۱	۱۷/۱۳**	۰/۲۳**	۰/۰۱**	۲۰۷۲/۳۲**	۶۸۶/۵۵**	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰۱۳**	۰/۰۰۰۲^{ns}
بیوچار	۱	۲/۸۹**	۰/۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵^{ns}	۱۲۸۲/۳۶**	۸۸۹۲/۱۴**	۰/۰۶^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۲^{ns}	۰/۰۰۴*
اکوتیپ	۵	۳/۰۵**	۰/۰۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۰۰۶^{ns}	۲۵۰۰/۱۸**	۴۰۷۲/۶۸**	۰/۳۱^{ns}	۰/۰۰۰۲۰**	۰/۰۰۲^{ns}
آبیاری× بیوچار	۱	۰/۱۲**	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۰۰۵^{ns}	۳۰۸/۷۵*	۱۹۲۴۱/۲۳**	۰/۰۷^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۶۴^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}
بیوچار× اکوتیپ	۵	۰/۰۳**	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۸^{ns}	۶۴۲/۴۴**	۲۶۰۰/۱۹**	۰/۰۵^{ns}	۰/۰۰۰۱۲*	۰/۰۰۰۴^{ns}
آبیاری× اکوتیپ	۵	۰/۲۲**	۰/۰۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۶۱۱/۷۲**	۴۳۴/۸۰**	۰/۲۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۶۶^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}
آبیاری× بیوچار× اکوتیپ	۵	۰/۳۹**	۰/۰۰۰۵^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۷۳۴/۰۸**	۴۰۷۵/۴۳**	۰/۲۳^{ns}	۰/۰۰۰۱۱*	۰/۰۰۱^{ns}
خطا	۷۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۵۴/۵۰	۸۷/۵۱	۰/۲۰	۰/۰۰۰۰۴۰	۰/۰۰۰۷
ضریب تغییرات (٪)	-	۲/۰۸	۱۸/۲۹	۲۲/۳۶	۷/۰۴	۴/۳۷	۱۱/۶۵	۱۴/۷	۳۱/۱۰

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

۴-۱-۲- تعداد غلاف در بوته

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثرات ساده تیمار آبیاری، بیوچار و اکوتیپ بر میانگین تعداد غلاف در بوته شنبلیله در سطح احتمال یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار شد با این وجود اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارهای آزمایشی بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۴-۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد غلاف در بوته به اکوتیپ‌های رهنان (۹/۷۷ عدد) و خمینی‌شهر (۹/۶۶ عدد) تعلق داشت که اختلاف معنی‌داری با سایر اکوتیپ‌ها داشتند. کمترین تعداد غلاف در بوته مربوط به اکوتیپ دزفول (۶/۹۷ عدد) بود و تعداد غلاف در بوته در این اکوتیپ نسبت به اکوتیپ رهنان ۲۸/۶۴ و نسبت به اکوتیپ خمینی‌شهر ۲۷/۸۱ درصد کمتر بود (شکل ۴-۲).

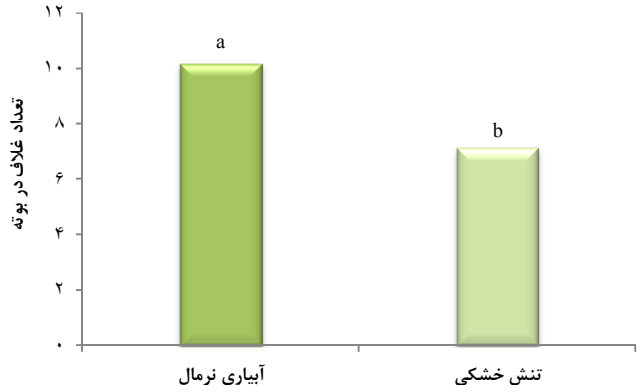


شکل ۴-۲. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته در اکوتیپ‌های مختلف

همچنین کاربرد بیوچار موجب افزایش میانگین تعداد غلاف در بوته شد به‌طوری‌که با کاربرد بیوچار تعداد غلاف در بوته به میزان ۱۴/۰۸ درصد در مقایسه با عدم کاربرد بیوچار افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری بین این دو سطح مشاهده شد (شکل ۴-۳).

شکل ۴-۳. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر بیوچار

فاکتور آبیاری نیز بر تعداد غلاف در بوته تأثیرگذار بود و اختلاف معنی‌داری بین آبیاری نرمال و تنش خشکی مشاهده شد. در شرایط تنش خشکی، تعداد غلاف در بوته نسبت به شرایط آبیاری نرمال به میزان ۳۰/۱۵ درصد کاهش داشت (شکل ۴-۴).

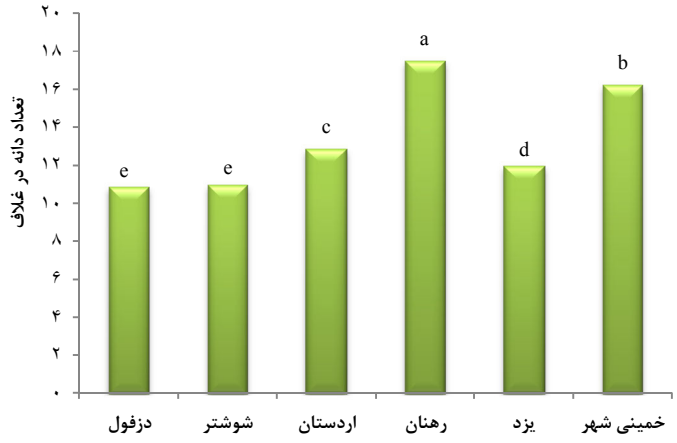


شکل ۴-۴. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر آبیاری

۴-۱-۳- تعداد دانه در غلاف

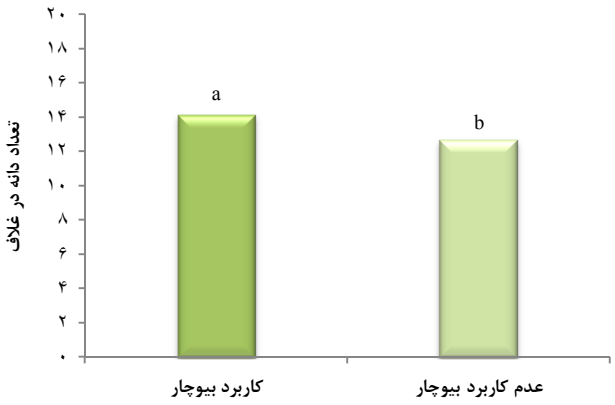
طبق نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس، اثرات ساده اکوتیپ، آبیاری و بیوچار در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) بر میانگین تعداد دانه در غلاف معنی‌دار بود و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه

تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر این صفت نداشتند (جدول ۴-۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، اکوتیپ‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند و بیشترین تعداد دانه در غلاف مربوط به اکوتیپ رهنان (۱۷/۵۱ عدد) و کمترین تعداد دانه در غلاف مربوط به اکوتیپ‌های شوشتر (۱۰/۹۸ عدد) و دزفول (۱۰/۸۵عدد) بود (شکل ۴-۵).



شکل ۴-۵. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف در اکوتیپ‌های مختلف

نتایج مقایسه میانگین تیمار بیوچار نشان داد در شرایط کاربرد بیوچار تعداد دانه در غلاف (۱۴/۱۲ عدد) بیشتری نسبت به شرایط عدم کاربرد بیوچار (۱۲/۶۶ عدد) مشاهده شد. کاربرد بیوچار تعداد دانه در غلاف را به میزان ۱۰/۳ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۶). همچنین فاکتور آبیاری نیز بر صفت تعداد دانه در غلاف اثرگذار بود به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری بین آبیاری نرمال (۱۵/۰۶ عدد) و تنش خشکی (۱۱/۷۲ عدد) مشاهده گردید. در شرایط تنش خشکی، تعداد دانه در غلاف به میزان ۲۲/۱۳ درصد در مقایسه با آبیاری نرمال کاهش یافت (شکل ۴-۷).



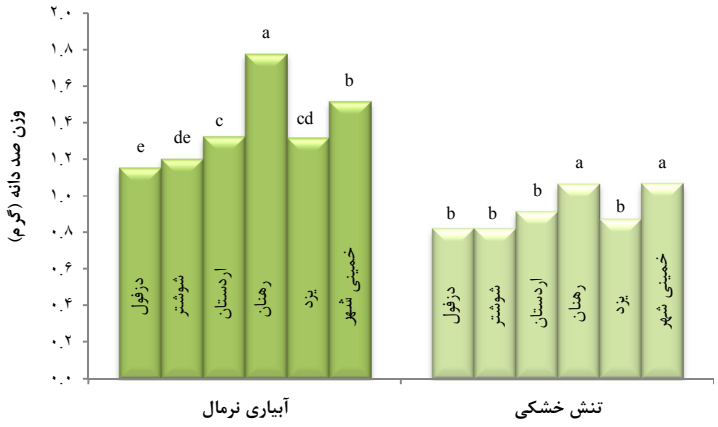
شکل ۴-۶. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر بیوچار

شکل ۴-۷. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر آبیاری

۴-۱-۴- وزن صد دانه

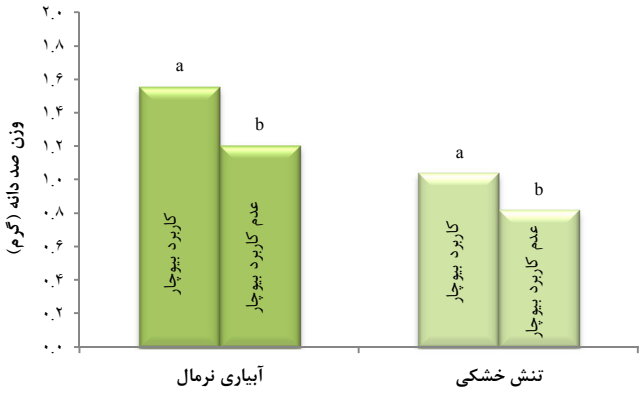
وزن صد دانه از اجزای مهم عملکرد بوده و تحت تأثیر خصوصیات ژنتیکی گیاه از نظر پتانسیل تولید دانه، رقابت دانه‌ها، طول دوره‌ی پر شدن دانه‌ها و شرایط محیطی قرار دارد (منصوری‌فر و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) نشان داد وزن صد دانه در سطح احتمال یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) تحت تأثیر اثر متقابل دوگانه آبیاری×اکوتیپ قرار گرفت. همچنین اثر متقابل دوگانه آبیاری×بیوچار در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بر وزن صد دانه معنی‌داری بود. اثر متقابل دوگانه اکوتیپ×بیوچار و اثر متقابل سه‌گانه آبیاری×بیوچار×اکوتیپ تأثیر معنی‌داری بر وزن صد دانه نداشتند (جدول ۴-۱). نتایج

مقایسه میانگین داده ها به روش برش‌دهی نشان داد که بیشترین میزان وزن صد دانه در شرایط آبیاری نرمال مربوط به اکوتیپ رهنان (۱/۷۷ گرم) و کمترین میزان وزن صد دانه در این شرایط مربوط به اکوتیپ دزفول (۱/۱۵ گرم) بود. با اعمال تنش خشکی، کاهش معنی‌داری در وزن صد دانه اکوتیپ ها مشاهده گردید (شکل ۴-۸). همچنین کاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی وزن صد دانه را به ترتیب به میزان ۲۲/۴۰ و ۲۱/۲۴ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۹). اگر چه وزن صد دانه در اکوتیپ‌ها تحت تأثیر بیوچار قرار نگرفت، اما اثر کاهشی تنش خشکی بر وزن صد دانه در تمام اکوتیپ‌ها قابل‌مشاهده بود؛ به‌طوری‌که وزن صد دانه در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر در اثر تنش خشکی به ترتیب به میزان ۲۸/۶۶، ۳۱/۶۰، ۳۰/۹۵، ۳۹/۹۷، ۳۳/۵۸، و ۲۹/۶۵ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش نشان داد (شکل ۴-۸).



شکل ۴-۸. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

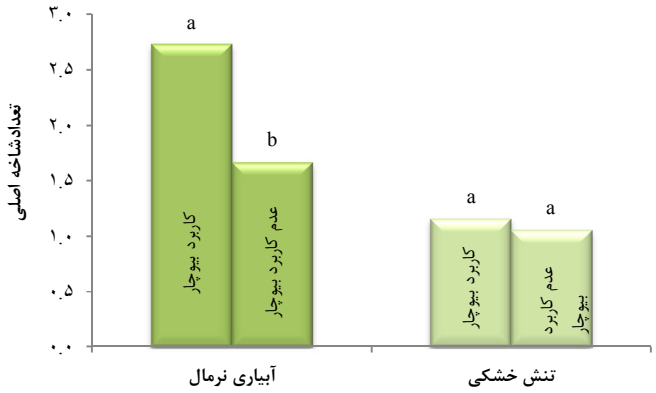
بیشترین میزان وزن صد دانه مربوط به تیمار کاربرد بیوچار در آبیاری نرمال (۱/۵۵ گرم) بود و کمترین میزان به تیمار عدم کاربرد بیوچار در شرایط تنش خشکی (۰/۸۱ گرم) تعلق داشت. کاربرد بیوچار در شرایط تنش خشکی، ۲۱/۲۴ درصد افزایش وزن صد دانه را نسبت به عدم کاربرد بیوچار به دنبال داشت (شکل ۴-۹).



شکل ۴-۹. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تاثیر آبیاری و بیوچار

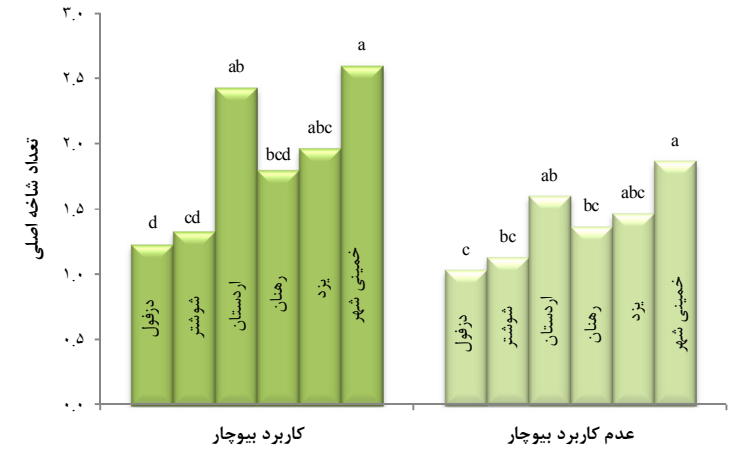
۴-۱-۵- تعداد شاخه اصلی در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل آبیاری×بیوچار و آبیاری×اکوتیپ در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq$۰/۰۱) و اثر متقابل بیوچار×اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq$۰/۰۵) بر صفت تعداد شاخه اصلی در بوته معنی‌دار بود ولی اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی بر تعداد شاخه اصلی در این آزمایش معنی‌دار نبود (جدول ۴-۱). نتایج مقایسه میانگین داده ها به روش برش‌دهی نشان داد که کاربرد بیوچار تعداد شاخه اصلی در بوته را در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی به ترتیب به میزان ۳۹/۰۲ و ۸/۶۵ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۱۰). تنش خشکی تعداد شاخه اصلی در بوته را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۱۶/۲۱، ۱۹/۵۱، ۶۴/۰۴، ۴۱/۶۶، ۵۴/۹۳، و ۶۳/۲۶ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش داد با این وجود تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ ها در شرایط تنش خشکی وجود نداشت (شکل ۴-۱۱). همچنین کاربرد بیوچار تعداد شاخه اصلی را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۱۶/۲۱، ۱۵، ۳۴/۲۴، ۲۴/۰۷، ۲۵/۴۲، و ۲۸/۲۰ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۱۲).



شکل ۴-۱۰. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تاثیر آبیاری و بیوچار

شکل ۴-۱۱. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

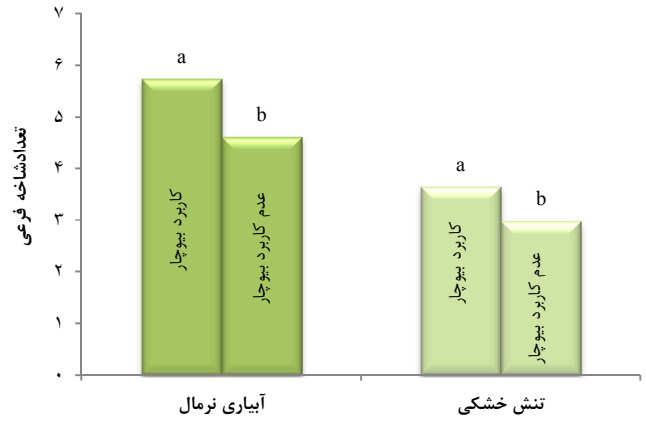


شکل ۴-۱۲. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تاثیر اکوتیپ و بیوچار

۴-۱-۶- تعداد شاخه فرعی در بوته

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) نشان داد اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی و اثر متقابل دوگانه بیوچار و اکوتیپ بر تعداد شاخه اصلی در بوته در این آزمایش معنی‌دار نمی‌باشد. در بین اثرات متقابل دوگانه‌ی تیمارهای آزمایشی بر تعداد شاخه فرعی، اثر متقابل آبیاری و بیوچار و همچنین آبیاری و اکوتیپ بر تعداد شاخه‌ی فرعی به ترتیب در سطح احتمال ۵ ($P\leq ۰/۰۵$) و ۱ ($P\leq ۰/۰۱$) درصد معنی‌دار بودند.

نتایج مقایسه میانگین به روش برش‌دهی نشان می‌دهد کاربرد بیوچار تعداد شاخه فرعی در بوته را در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی به ترتیب به میزان ۱۹/۵۷ و ۱۸/۲۳ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۱۳). تنش خشکی تعداد شاخه فرعی در بوته را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۳۵/۲۴، ۲۹، ۳۸/۵۴، ۳۳/۳۳، ۳۷/۸۸، و ۳۸/۲۹ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش داد (شکل ۴-۱۴).



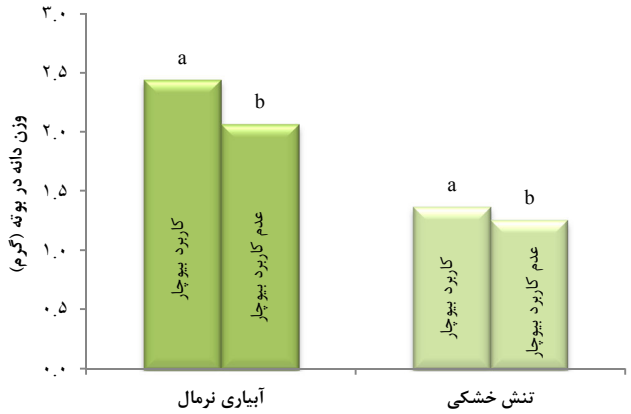
شکل ۴-۱۳. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تاثیر آبیاری و بیوچار

شکل ۴-۱۴. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

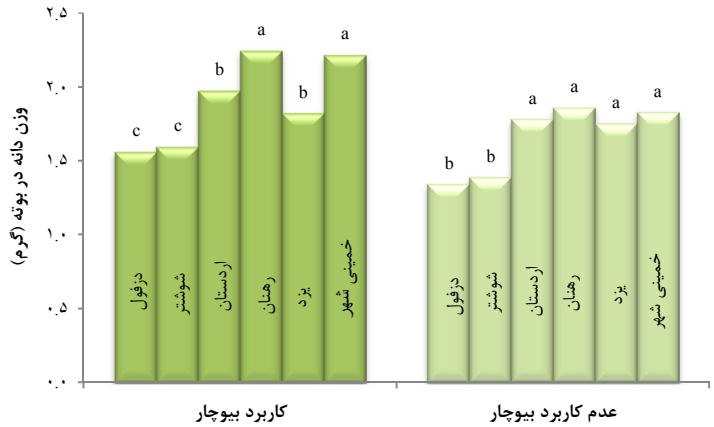
۴-۱-۷- وزن دانه در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل دوگانه آبیاری×بیوچار و آبیاری×اکوتیپ در سطح احتمال یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) و اثر متقابل دوگانه بیوچار×اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بر میانگین وزن دانه در بوته معنی‌دار بود؛ اما اثر متقابل سه‌گانه بیوچار×اکوتیپ× آبیاری بر میانگین وزن دانه در بوته معنی دار نبود (جدول ۴-۱).

بیشترین میزان وزن دانه در بوته متعلق به تیمارکاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال (۲/۴۴ گرم) بود و کمترین میزان به تیمار عدم کاربرد بیوچار در شرایط تنش خشکی (۱/۲۵ گرم) تعلق داشت. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش برش‌دهی، کاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی در مقایسه با عدم کاربرد بیوچار، میانگین وزن دانه در بوته را به ترتیب به میزان ۱۵/۴۱ و ۸/۳۵ درصد افزایش داد (شکل ۴-۱۵).



شکل ۴-۱۵. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تاثیر آبیاری و بیوچار



شکل ۴-۱۶. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تاثیر اکوتیپ و بیوچار

بررسی اثر متقابل اکوتیپ×بیوچار (شکل۴-۱۶) نشان داد کـه بیشـترین میـزان وزن دانـه در بوتـه مربوط به اکوتیپ‌های رهنان (۲/۲۴ گرم) و خمینی‌شهر (۲/۲۱ گـرم) در شـرایط کـاربرد بیوچـار بـود و در شرایط عدم کاربرد بیوچار، اکوتیپ‌های دزفول (۱/۳۴ گرم) و شوشتر (۱/۳۹ گـرم) کمتـرین میـانگین‌هـای وزن دانه در بوته را دارا بودند. چنین به نظر می‌رسد که بیوچار اثر معنی‌داری بر میانگین وزن دانـه در بوتـه دارد به طوری‌که تیمار عدم کاربرد بیوچار اخـتلاف معنـی‌داری بـا تیمـار کـاربرد بیوچـار در اکوتیـپ‌هـای مختلف دارد. با کاربرد بیوچار میانگین وزن دانه در بوته در اکوتیپ‌های دزفول، شوشـتر، اردسـتان، رهنـان،

یزد و خمینی‌شهر در مقایسه با عدم کـاربرد بیوچـار، بـه ترتیـب بـه میـزان ۱۴/۳۱، ۱۲/۹، ۹/۸۸، ۱۷/۲۹، ۳/۸۷، ۱۷/۴۷ درصد افزایش نشان داد (شکل ۴-۱۶).

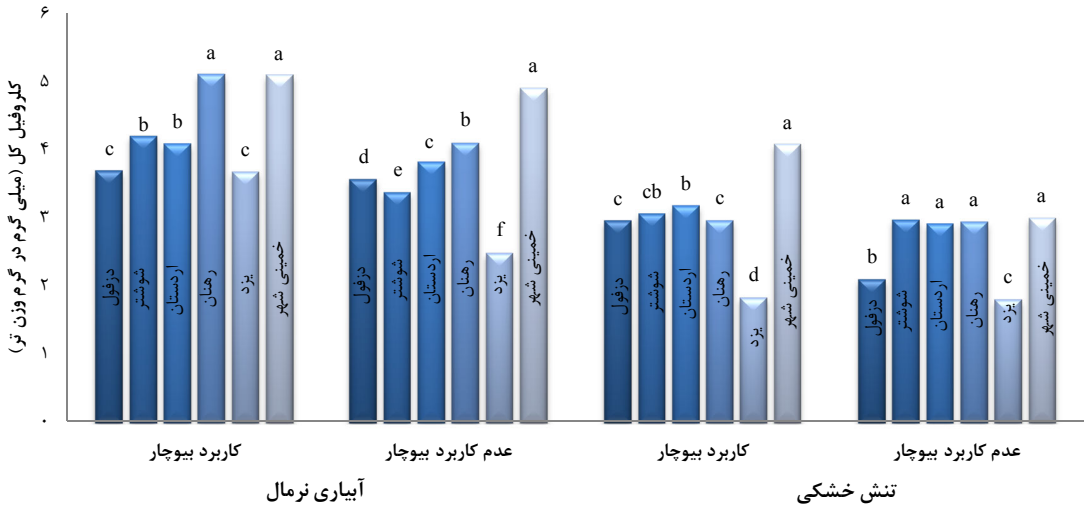
شکل ۴-۱۷. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

بیشترین میانگین وزن دانه در بوته مربـوط بـه اکوتیـپ‌هـای رهنـان (۲/۶۲ گـرم) و خمینـی‌شـهر (۲/۶۲ گرم) در شرایط آبیاری نرمال بود. تنش خشکی میانگین وزن دانه در بوته را در اکوتیپ‌های دزفـول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی‌شهر بـه ترتیـب ۴۰/۱۵، ۴۳/۸۵، ۳۴/۴۸، ۴۳/۱۱، ۴۴/۳۶ و ۴۵/۴۲ درصد نسبت به آبیاری نرمال کاهش داد (شکل ۴-۱۷). با وجود پاسخ متفاوت اکوتیپ‌ها، اثر کاهشی تـنش خشکی و اثر افزایشی کاربرد بیوچار بر میانگین وزن دانه در بوته در تمام اکوتیپ‌ها قابل‌مشاهده بود.

۴-۱-۸- میزان کلروفیل کل برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد تمام اثرات ساده و متقابل تیمارهـای آزمایشی بر میزان کلروفیل کل برگ در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود.

در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد بیوچار میزان کلروفیل کل را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۳/۱۵، ۱۹/۴۲، و ۶/۲۶ ، ۱۹/۴۸، ۳۲/۲۷ و ۳/۶۱ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد. همچنین در شرایط تنش خشکی، کاربرد بیوچار میزان کلروفیل کل را در اکوتیپ‌های مذکور به ترتیب به میزان ۲۸/۹۳، ۲/۹۸، و ۸/۲۸ ، ۰/۷۶، ۱/۸۵ و ۲۶/۴۹ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۱۸).



شکل ۴-۱۸. مقایسه میانگین میزان کلروفیل کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری

۴-۱-۹- میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان برگ: کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل دوگانه آبیاری×بیوچار سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بر میزان آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۴-۱). کمترین میزان آنزیم کاتالاز متعلق به تیمارکاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال (۰/۱۴ واحد آنزیمی در میلی‌گرم پروتئین) بود و بیشترین میزان به تیمار عدم کاربرد بیوچار در شرایط تنش خشکی (۰/۳۱ واحد آنزیمی در میلی‌گرم پروتئین) تعلق داشت. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش برش‌دهی کاربرد بیوچار در مقایسه

با عدم کاربرد بیوچار، میزان آنزیم کاتالاز را در شرایط آبیاری نرمال بـه میـزان ۱۴/۲۹ درصـد افـزایش و در شرایط تنش خشکی به میزان ۸/۶۳ درصد کاهش داد (شکل ۴-۱۹).

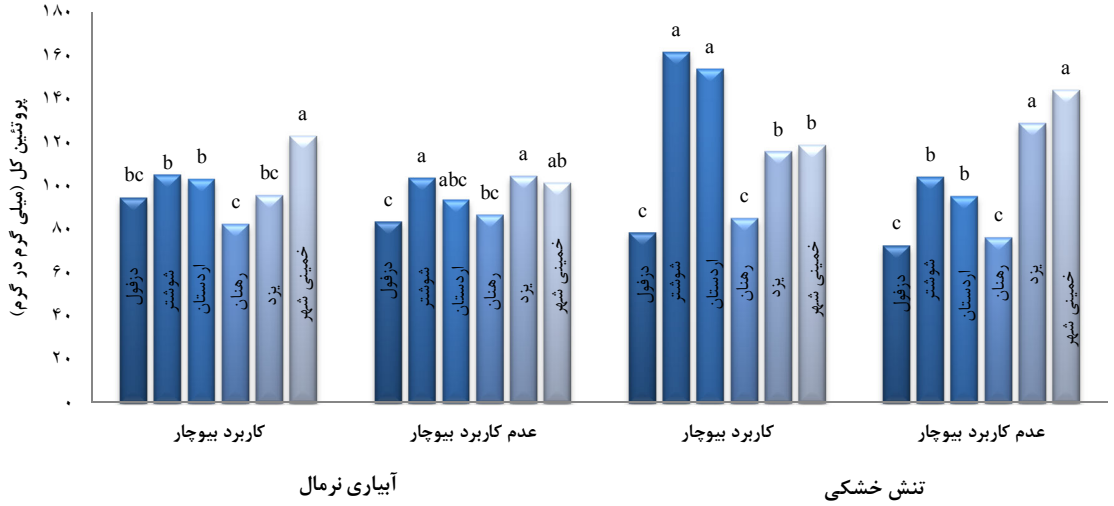
شکل ۴-۱۹. مقایسه میانگین میزان آنزیم کاتالاز تحت تاثیر آبیاری

با این وجود میزان آنزیم پراکسیداز تنها تحت تاثیر رژیم آبیاری ($P\leq ۰/۰۱$) قرار گرفت (جـدول ۴-۱). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها تـنش خشـکی میـزان آنـزیم پراکسـیداز را نسـبت بـه شرایط آبیاری نرمال به میزان ۴۱/۹۹ درصد افزایش داد (شکل ۴-۲۰).

شکل ۴-۲۰. مقایسه میانگین میزان آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر آبیاری

۴-۱-۱۰- میزان پروتئین کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد تمام اثرات ساده و متقابل تیمارهای آزمایشی بر میزان پروتئین کل بجز اثر متقابل دوگانه‌ی آبیاری و بیوچاردر سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. اثر متقابل دوگانه‌ی آبیاری و بیوچار بر میزان پروتئین کل در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار بود. در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد بیوچار میزان پروتئین کل را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۱۱/۷۲، ۱/۵۶، و ۹/۴۹ و ۱۷/۷۴ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد. با این وجود با کاربرد بیوچار میزان پروتئین کل در همین شرایط آبیاری در اکوتیپ های رهنان و یزد به ترتیب به میزان ۴/۷۵ و ۸/۳۱ درصد کاهش یافت. در شرایط تنش خشکی، کاربرد بیوچار میزان پروتئین کل را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان به میزان ۷/۷۳، ۳۵/۶۳، و ۳۸/۰۵ و ۱۰/۲۳ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد. با این وجود با کاربرد بیوچار میزان پروتئین کل در همین شرایط آبیاری در یزد و خمینی شهر به ترتیب به میزان ۱۰/۱۱ و ۱۷/۶۵ درصد کاهش یافت (شکل ۴-۲۱).

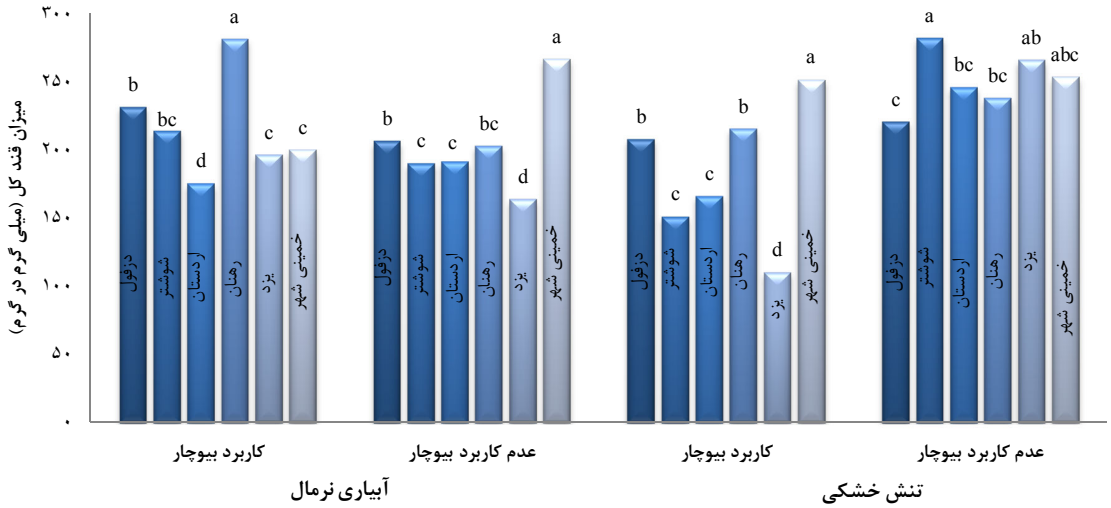


شکل ۴-۲۱. مقایسه میانگین میزان پروتئین کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری

۴-۱-۱۱- میزان قند کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد تمام اثرات ساده و متقابل تیمارهـای آزمایشی بر میزان قند کل در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود.

در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد بیوچار میزان قند کل را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشـتر، رهنـان و یزد به ترتیب به میزان ۱۰/۷۹، ۱۱/۰۴، و ۲۷/۸۴ و ۱۶/۶۷ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افـزایش داد. با این وجود بـا کـاربرد بیوچـار میـزان قنـد کـل در همـین شـرایط آبیـاری در اکوتیـپ هـای اردسـتان و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۸/۳۵ و ۲۵/۰۳ درصد کاهش یافت. در شرایط تنش خشکی، کاربرد بیوچـار میزان قند کل را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردسـتان، رهنـان، یـزد و خمینـی‌شـهر بـه میـزان ۵/۸۰، ۴۶/۴۲، ۳۲/۴۳ و ۹/۴۱، ۵۸/۴۶ و ۰/۷۶ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار کاهش داد (شکل ۴-۲۲).



شکل ۴-۲۲. مقایسه میانگین میزان قند کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری

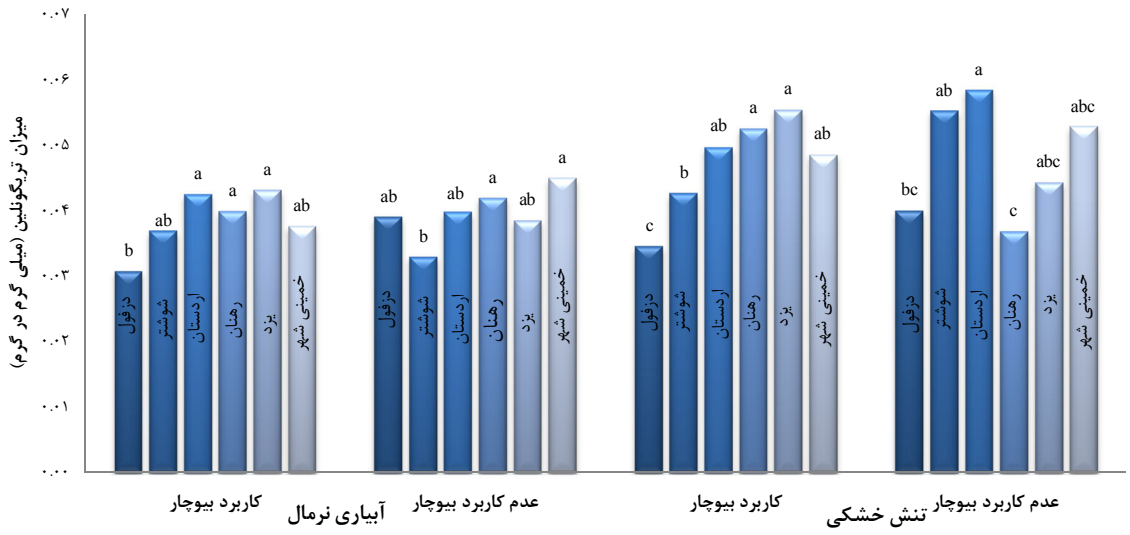
۴-۱-۱۲- میزان روغن کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد میزان روغن بذر تحت تاثیر هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

۴-۱-۱۳- میزان تریگونلین دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی و همچنین اثر متقابل دوگانه بیوچار و اکوتیپ بر میزان تریگونلین بذر در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار بود.

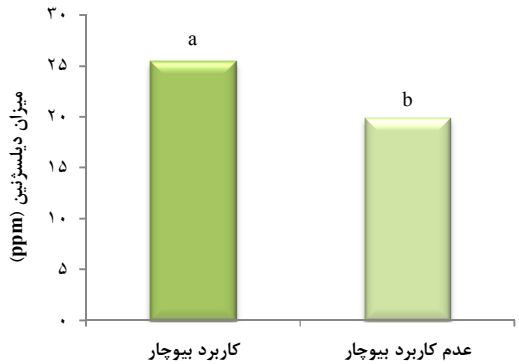
در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد بیوچار میزان تریگونلین بذر را در اکوتیپ‌های دزفول، رهنان، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۲۱/۱۷، ۴/۷۹ و ۱۶/۲۷ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار کاهش داد. این در حالی است که کاربرد بیوچار در همین شرایط آبیاری میزان تریگونلین بذر را در اکوتیپ‌های شوشتر، اردستان، و یزد به ترتیب به میزان ۱۰/۷۶، ۶/۴۷ و ۱۰/۷۲ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد. با این وجود تاثیر کاربرد بیوچار بر تغییر میزان تریگونلین اکوتیپ ها در این شرایط معنی‌دار نبود. در شرایط تنش خشکی، کاربرد بیوچار میزان تریگونلین بذر را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، و خمینی‌شهر را به ترتیب به میزان ۱۳/۴۲، ۲۲/۶۵، ۱۴/۸۳، و ۸/۰۶ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار کاهش داد، در حالی که کاربرد بیوچار در همین شرایط آبیاری میزان تریگونلین بذر را در اکوتیپ‌های رهنان و یزد به ترتیب به میزان ۲۹/۸۲ و ۲۰/۱۵ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد. با این وجود تاثیر کاربرد بیوچار بر تغییر میزان تریگونلین در این شرایط تنها برای اکوتیپ رهنان معنی‌دار بود (شکل ۴-۲۳).



شکل ۴-۲۳. مقایسه میانگین میزان تریگونلین بذر اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری

۴-۱-۱۴- میزان دیاسژنین دانه

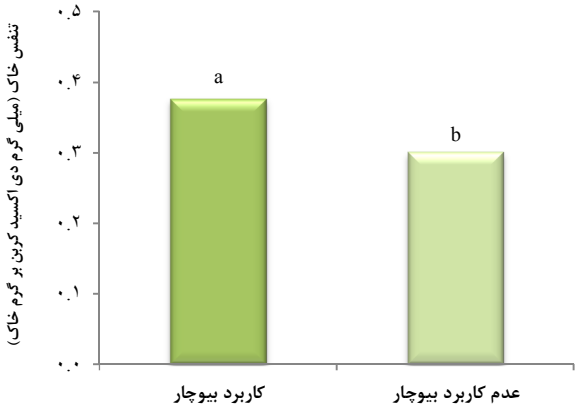
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنها سطوح مختلف بیوچار میزان دیاسژنین را تحت تاثیر قرار دادند ($P\leq$۰/۰۵). اثر ساده تیمارهای آبیاری و اکوتیپ و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارهای آزمایشی بر میزان دیاسژنین بذر معنی‌دار نبود (جدول ۴-۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین کاربرد بیوچار میزان دیاسژنین بذر را به میزان ۲۱/۹ درصد افزایش می دهد. میزان دیاسژنین بذر در شرایط کاربرد و عدم کاربرد بیوچار به ترتیب ۲۵/۴۸ و ۱۹/۸۹ پی‌پی‌ام اندازه‌گیری شد (شکل ۴-۲۴).



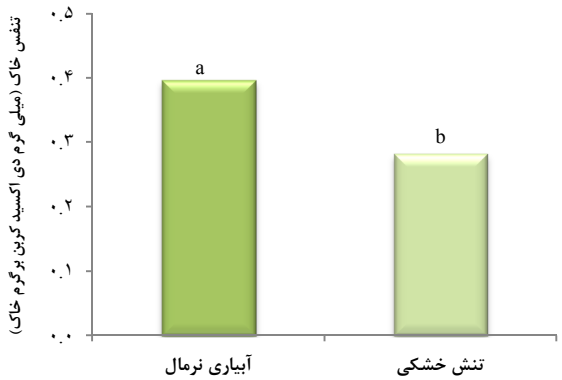
شکل ۴-۲۴. مقایسه میانگین میزان دیاسژنین بذر تحت تاثیر بیوچار

۴-۱-۱۵- تنفس خاک

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشـان داد اثـر سـاده آبیـاری و بیوچـار در سـطح احتمـال ۱ درصـد (P≤۰/۰۵) بر میزان تنفس خاک معنی‌دار بود (جدول ۴-۲)؛ مقایسه میانگین داده‌ها نشـان داد کـه کـاربرد بیوچار موجب افزایش تنفس خاک به میزان ۲۰/۰۳ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار گردیـد (شـکل ۴-۲۵). همچنین تنش خشکی تنفس خاک را به میزان ۲۹/۰۴ درصد کاهش داد (شکل ۴-۲۶).



شکل ۴-۲۵. مقایسه میانگین تنفس خاک تحت تاثیر بیوچار

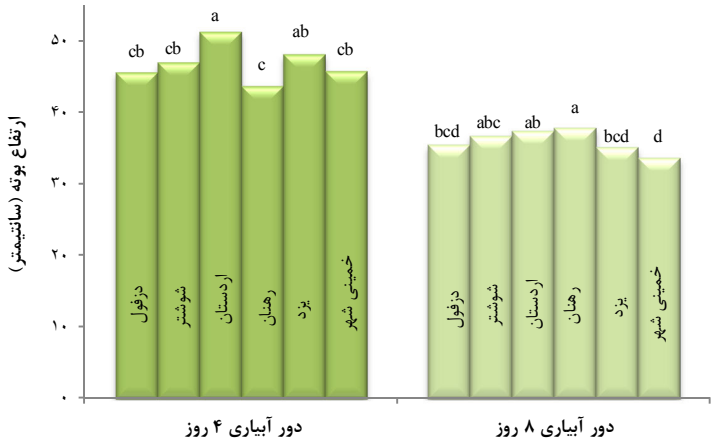


شکل ۴-۲۶. مقایسه میانگین تنفس خاک تحت تاثیر آبیاری

۴-۲- آزمایش مزرعه

۴-۲-۱- ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد اثر متقابل دور آبیاری و اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد (P≤۰/۰۵) بر روی ارتفاع بوته معنی‌دار بود (جدول ۴-۲)؛ بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش برش‌دهی، افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز میانگین ارتفاع بوته را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۲۲/۴۲، ۲۲/۰۱، ۲۷/۲۳، ۱۳/۶۶، ۲۷/۱۳، و ۲۶/۶۲ درصد کاهش داد. به نظر می‌رسد اکوتیپ رهنان متحمل‌ترین اکوتیپ در بین اکوتیپ های شنبلیله باشد و کمترین میزان کاهش ارتفاع بوته (۱۳/۶۶ درصد) را با افزایش دور آبیاری نشان داد (شکل ۴-۲۷).



شکل ۴-۲۷. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

کمبود آب در گیاه موجب کاهش تورژسانس سلولی شده و در نهایت کاهش رشد و توسعه سلول به‌خصوص در ساقه و برگ‌ها را به دنبال خواهد داشت. با کاهش رشد سلول، اندازه اندام‌های گیاهی محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبی روی گیاه را می‌توان از روی کاهش ارتفاع یا اندازه کوچک‌تر برگ‌ها تشخیص داد (تنگو و همکاران، ۱۳۹۳).

جدول ۴-۲. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط مزرعه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		عملکرد دانه	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن صد دانه	ارتفاع بوته	تعداد شاخه اصلی	تعداد شاخه فرعی	تنفس خاک
تکرار	۲	۹۰۵/۰۲	۴/۲۹	۳۹/۸۴	۰/۰۱	۱۸/۱۱	۰/۰۵	۰/۲۳	۰/۰۰۰۰۰۲
آبیاری	۱	۷۶۵۹۰/۷۷**	۱۶۵۸/۸۸**	۱۳۸/۸۸**	۱/۳۴**	۲۱۶۳/۳۹**	۲۱/۵۶**	۱۲۵۵/۰۰۵**	۰/۱۵**
تکرار× آبیاری	۲	۲۱۷/۲۸	۱۳/۸۰	۱۴/۵۰	۰/۰۱	۴/۴۹	۰/۰۰۳	۰/۱۵	۰/۰۰۰۰۰۰۳
بیوچار	۱	۱۶۱۷۴/۰۵**	۳۶۳/۶۰**	۴۸/۰۲**	۰/۵۱**	۰/۹۷^{ns}	۴/۲۰**	۲۰۷/۴۰**	۰/۰۴**
اکوتیپ	۵	۱۲۹۸۱/۰۳**	۱۵۲۸/۱۶**	۴۲/۹۰**	۰/۱۸**	۳۱/۰۵**	۹/۹۲**	۴/۹۹**	۰/۰۰۰۲^{ns}
آبیاری× بیوچار	۱	۱۱۳۵/۸*	۰/۹۳^{ns}	۵/۷۸^{ns}	۰/۱۰*	۶/۵۴^{ns}	۶/۱۲**	۹/۵۳**	۰/۰۰۰۱^{ns}
بیوچار× اکوتیپ	۵	۴۱۳/۱۹^{ns}	۰/۴۵^{ns}	۱/۰۸^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۹/۰۶^{ns}	۰/۲۰^{ns}	۰/۱۴^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}
آبیاری× اکوتیپ	۵	۱۱۳۲/۶۲*	۸/۶۷^{ns}	۱/۶۲^{ns}	۰/۰۴*	۲۴/۴۷*	۱/۹۱**	۰/۶۵**	۰/۰۰۰۰۹^{ns}
آبیاری× بیوچار× اکوتیپ	۵	۴۱۴/۰۹^{ns}	۴/۸۹^{ns}	۲/۴۹^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۳/۲۱^{ns}	۰/۱۵^{ns}	۰/۱۱^{ns}	۰/۰۰۰۴^{ns}
خطا	۴۴	۲۲۴/۵۷	۳/۶۸	۴/۷۹	۰/۰۱	۷/۵۷	۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۰۰۰۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۱۴/۳۷	۵/۸۶	۱۸/۲۹	۱۰/۹۸	۶/۶۳	۶/۸۳	۲/۴۲	۵/۶۴

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						درجه آزادی	میانگین مربعات
		کلروفیل کل	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز	پروتئین کل دانه	قند کل دانه	روغن کل دانه	تریگونلین دانه	دیاسژنین دانه
تکرار	۲	۰/۱۷	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲	۷۱۲/۸۷	۰/۰۶	۱/۲۲	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۶	۲
آبیاری	۱	۸/۰۲**	۰/۱۳**	۰/۰۴**	۱۸۱۵۱/۶۲**	۰/۱۵^{ns}	۰/۷۹^{ns}	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۲^{ns}	۱
تکرار× آبیاری	۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۲۱	۷۴/۹۶	۰/۵۵	۰/۰۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۴	۲
بیوچار	۱	۳/۶۸**	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۴^{ns}	۶۹/۵۹^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۱/۸۰^{ns}	۰/۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۱
اکوتیپ	۵	۱/۸۹**	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۴^{ns}	۷۰۶/۱۵^{ns}	۶۴/۳۹^{ns}	۰/۷۸^{ns}	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۲*	۱
آبیاری× بیوچار	۱	۰/۰۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۱۱۹/۳۵^{ns}	۴/۶۹^{ns}	۰/۸۵^{ns}	۰/۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۱
بیوچار× اکوتیپ	۵	۰/۲۱**	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۱۳۷۶/۹۲^{ns}	۵۳/۶۲^{ns}	۱/۴۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۶^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}	۱
آبیاری× اکوتیپ	۵	۰/۰۸**	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۶^{ns}	۲۵۵/۱۸^{ns}	۳۲/۹۲^{ns}	۰/۸۶^{ns}	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۱^{ns}	۱
آبیاری× بیوچار× اکوتیپ	۵	۰/۰۵**	۰/۰۰۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۰۰۲^{ns}	۱۳۲۸/۴۲^{ns}	۸۱/۶۱^{ns}	۰/۷۴^{ns}	۰/۰۰۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۰۷^{ns}	۱
خطا	۴۴	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۱	۶۱۰/۱۲	۵۰/۳۲	۰/۷۶	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۳	۱۲
ضریب تغییرات (٪)	-	۱/۳۰	۳/۱۴	۱۷/۷۵	۱۷/۷۳	۳/۳۱	۲۷/۲۹	۱۲/۴۲	۴۰/۷۰	-

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

مطالعات مختلف نشان داده که معمولا تنش خشکی منجر به کاهش ارتفاع بوته می‌شود. از جمله، می توان به مطالعات انجام شده در گیاه شنبلیله و ریحان (ریاست و همکاران، ۱۳۸۴؛ احمدالهادی و همکاران، ۱۹۹۹)، مریم‌گلی، بومادران، اسفرزه، همیشه‌بهار، بابونه (لباسچی و شریفی عاشور آبادی، ۱۳۸۳)، گل مکزیکی (امیدبیگی و محمودی سورستانی، ۱۳۸۹) و بادرشبو (صفی خانی و همکاران، ۱۳۸۶) اشاره کرد. حسنی و همکاران (۱۳۸۲) مشاهده کردند با کاهش مقدار آبیاری، ارتفاع بوته، قطر ساقه، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و عملکرد گیاه ریحان (Ocimum basilicum L.) کاهش پیدا کرد. احمدالهادی و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که گیاه شنبلیله به تنش آبی در طول مراحل رشد گیاهی حساس است و کاهش پتانسیل ماتریک خاک به کمتر از ۰/۳- مگاپاسکال منجر به کاهش اساسی در پارامترهای رشدی چون ارتفاع، وزن تر اندام هوایی و سطح برگ کل می‌گردد. بیژنی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش نمودند که تنش خشکی بر صفات رویشی شنبلیله شامل تعداد برگ، ارتفاع ساقه و طول ریشه معنی‌دار بود. با افزایش شدت تنش خشکی، کمیت صفات رویشی کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که بیشترین مقادیر برای تمامی صفات در تیمار آبیاری کامل و کمترین نیز در شرایط تنش آبی شدید (۳۰ درصد رطوبت قابل‌استفاده) به‌دست آمد و تنش شدید باعث کاهش ۲۲/۲، ۲/۹ و ۲۶/۳ درصدی به‌ترتیب در تعداد برگ، ارتفاع ساقه و طول ریشه شنبلیله نسبت به شاهد گردید. به نظر می‌رسد که رشد کم، یک حالت سازگارکننده برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است، به این دلیل که گیاه، مواد غذایی و انرژی را به جای استفاده برای رشد شاخساره، به سمت مولکول‌های نگهدارنده در برابر تنش، هدایت می‌کند (خالید، ۲۰۰۶). نتایج بابایی و همکاران (۱۳۸۹) نیز نشان داد با افزایش تنش خشکی، ارتفاع بوته و تعداد ساقه‌های جانبی در شنبلیله کاهش یافت.

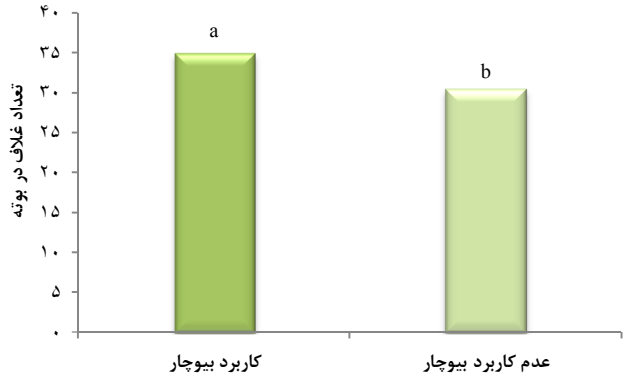
بریهون و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که کاربرد بیوچار ارتفاع گیاه نخود را در ۱۵ و ۳۰ روز پس از کاشت تحت تاثیر قرار داد. با این وجود باتارای و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که ارتفاع گیاه

نخود در ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت در اثر کاربرد بیوچار تغییر نکرد. اما در نهایت، ارتفاع بوته در کرت‌های بدون کاربرد بیوچار در مقایسه با کرت‌های عدم کاربرد بیوچار کمتر بود. به‌طورکلی، بین رشد گیاه و بیوچار در خاک رابطه مثبت وجود دارد. بتول و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که استفاده بیوچار شاهپسند به طور معنی‌داری ارتفاع بوته را در بامیه افزایش داد. برادران نجار (۱۳۹۵) نیز گزارش داد که استفاده از بیوچار به تنهایی تأثیر معنی‌داری در بالا بردن ارتفاع بوته داشت و در این بین سهم بیوچار بید در میزان افزایش، بیشتر از بیوچار گردو بود. بیوچار بید افزایش ۱۹ درصدی را نسبت به شاهد (عدم کاربرد بیوچار) به دنبال داشت. مانان و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند که استفاده از بیوچار در خاک موجب افزایش معنی‌داری در ارتفاع بوته سویا در گیاهان تحت تنش خشکی و گیاهان آبیاری‌شده می‌گردد. ارتفاع بوته با استفاده از بیوچار کود مرغ در خاک در هر دو شرایط تنش خشکی و آبیاری کامل به طور معنی‌داری در مقایسه با شرایط بدون بیوچار افزایش یافت. در شرایط تنش خشکی استفاده از بیوچار به میزان ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ تن در هکتار ارتفاع بوته را به ترتیب ۳/۳۰ ، ۶/۰۷ و ۴/۰۳ درصد افزایش داد. هوگان (۲۰۱۱) مشاهده کرد که بیوچار معمولا دارای توانایی فعال کردن میکروارگانیسم‌های خاک و افزایش ظرفیت نگهداری آب خاک است و در نتیجه موجب افزایش میزان فتوسنتز و افزایش ارتفاع گیاهان می‌گردد.

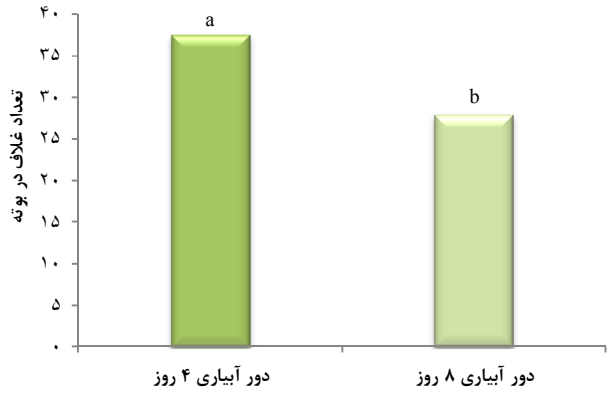
۴-۲-۲- تعداد غلاف در بوته

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۲)، اثرات ساده آبیاری، بیوچار و اکوتیپ بر میانگین تعداد غلاف در بوته شنبلیله در سطح احتمال یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارها روی این صفت معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد بیوچار موجب افزایش تعداد غلاف در بوته به میزان ۱۲/۸۴ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار گردید (شکل ۴-

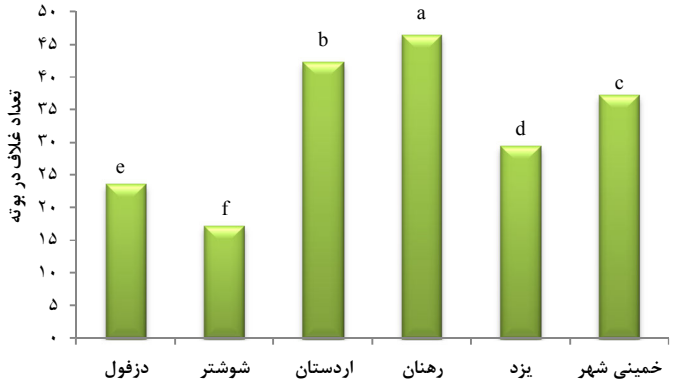
۲۸). همچنین با افزایش دور آبیاری از ۴ روز به ۸ روز، تعداد غلاف در بوته به میزان ۲۵/۵۷ درصد کاهش یافت (شکل ۴-۲۹). بالاترین میانگین تعداد غلاف در بوته مربوط به اکوتیپ رهنان (۴۶/۵ عدد) بود و این اکوتیپ اختلاف معنی‌داری با سایر اکوتیپ‌ها داشت. کمترین میانگین تعداد غلاف در بوته مربوط به اکوتیپ شوشتر (۱۷/۲۰ عدد) بود و میزان کاهش تعداد غلاف نسبت به اکوتیپ رهنان ۶۲/۹۹ درصد بود (شکل ۴-۳۰).



شکل ۴-۲۸. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر بیوچار



شکل ۴-۲۹. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر آبیاری



شکل ۴-۳۰. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته در اکوتیپ های مختلف

تعداد غلاف در بوته یکی از اجزاء مهم عملکرد دانه محسوب می‌شود، زیرا کـه غـلاف از یـک طـرف ظرفیت تشکیل دانه را فراهم می‌کند و از طرف دیگر پوسته سبز غلاف بـا انجـام فتوسـنتز درصـدی از مـواد لازم برای پر شدن دانه را فراهم می‌نماید. معنی‌دار شدن اثر اکوتیپ در این بررسی موید وجود تنوع ژنتیکـی بالا در بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات مورد ارزیـابی اسـت. بـزازی و همکـاران (۱۳۹۲) نشـان دادنـد کـه اثـر متقابل تیمار خشکی و توده شنبلیله برای صفات روز تـا رسـیدگی، تعـداد غـلاف در بوتـه، تعـداد دانـه در غلاف، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه معنی‌دار بود و بیشترین تعـداد غـلاف در بوتـه (۵۰/۸۸ غـلاف) در شرایط بدون تنش تولید شد. همچنین افزایش شدت تنش به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش تعـداد غـلاف در بوته گردید. به‌طوری‌که این صفت در تیمار تنش شدید (۳۱/۱۵ غلاف) به میزان ۳۸/۸ درصد نسبت بـه تیمار شاهد کاهش نشان داد و توده اردستان با میانگین ۷۳/۵۹ غلاف و با اختلاف معنی‌دار از سایر توده‌هـا بیشترین تعداد غلاف در بوته را تولید کرد. با این وجود باریسویچ و زوپـانچیچ (۲۰۰۲) در ارزیـابی گیاهـان بالغ در پایان آزمایش گلدانی، نشان دادنـد کـه ارقـام شـنبلیله رشـد یافتـه تحـت تـنش خشـکی بـه‌طـور معنی‌داری تعداد غلاف‌های بیشتری (به‌طور متوسط ۲۵) نسبت به ارقام تحت رژیم آبیاری مطلوب (به‌طـور متوسط ۲۲) داشتند.

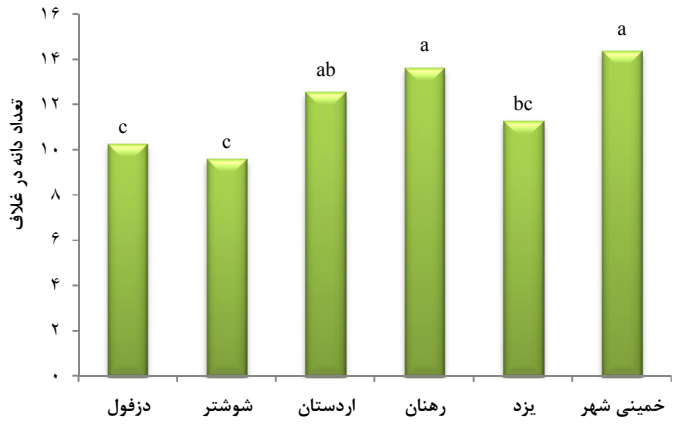
کاهش نقل و انتقال ماده خشک در طول دوره تنش خشکی ناشی از کاهش توانایی مبدا در تولید ماده خشک و کاهش قدرت مخزن در تجمع محصولات در اثر افزایش محدودیت رشد، می‌باشد. در واقع محدودیت منبع و نیز محدودیت مخزن باعث کاهش غلاف‌بندی در شرایط خشکی می‌شود (تارومینگ کنگ و کوتو، ۲۰۰۳). بر اثر تنش خشکی، علاوه بر کاهش دوره موثر پر شدن دانه‌ها، میزان تشکیل غلاف‌ها نیز کاهش می‌یابد (لئو و همکاران، ۲۰۰۵). وقوع تنش خشکی در مرحله شروع تشکیل غلاف باعث افزایش ریزش گل و غلاف شده که منجر به کاهش تعداد غلاف در گیاه می‌گردد (دانشیان و همکاران، ۲۰۰۲). قابل‌ذکر است که تعداد غلاف در گیاه می‌تواند علاوه بر اثر مستقیم، به‌طور غیرمستقیم از طریق تعداد دانه در بوته بر عملکرد دانه تأثیر بگذارد. کاهش تعداد غلاف در بوته می‌تواند ناشی از عدم تلقیح تعدادی از گل‌ها و ریزش آنها در اثر کمبود آب باشد. طبق گزارش موجود، در گیاه رازیانه نیز با افزایش فواصل آبیاری، تعداد چتر در بوته و تعداد چتر بارور در انشعاب اصلی روند کاهشی داشته است (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۵). بهبودیان و همکاران (۲۰۰۱) طی پژوهشی گزارش کردند که اعمال تنش خشکی بعد از شروع مرحله تشکیل غلاف با کاهش تشکیل و همچنین افزایش ریزش غلاف‌ها در بدو تشکیل دانه همراه است. برادران و همکاران (۱۳۹۲)، بزاری و همکاران (۱۳۹۲) و فرهادی و همکاران (۱۳۹۳) به حساسیت تعداد غلاف در بوته نسبت به تنش خشکی اشاره نمودند.

بریهون و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند که تعداد غلاف در بوته نخود به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر مقادیر مختلف بیوچار قرار می‌گیرد. نتایج آنها نشان داد که بیشترین تعداد غلاف با کاربرد بیوچار شاهپسند به میزان ۱۲ تن در هکتار به دست آمد. این ممکن است به این دلیل باشد که با بهبود خاک، گیاهان زراعی با وجود مواد مغذی کافی دارای رشد رویشی و انباشت ماده خشک بیشتری باشند که این موضوع به طور مستقیم با افزایش تعداد غلاف مرتبط است. این نتیجه مطابق با نتایج آگبولا و موزز (۲۰۱۵) است که افزایش تعداد غلاف نخود در واکنش به استفاده از بیوچار سبوس برنج را گزارش نمودند.

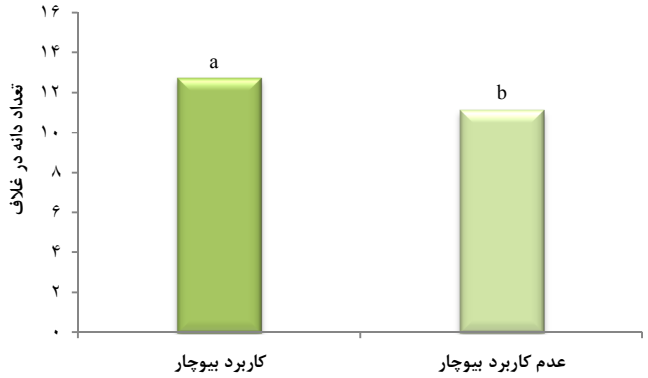
مانان و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند که استفاده از بیوچار تحت شرایط کم‌آبی و آبیاری موجب افزایش تعداد غلاف در بوته می‌شود. در شرایط آبیاری، حداکثر تعداد غلاف در بوته سویا (۴۲/۶۷ عدد) زمانی به دست آمد که بیوچار به میزان ۵۰ تن در هکتار استفاده شد، به دنبال آن میزان بیوچار ۲۵ و ۱۰۰ تن در هکتار به ترتیب تعداد غلاف بیشتری داشتند. کمترین تعداد غلاف در بوته سویا در شرایط عدم استفاده از بیوچار حاصل شد. در شرایط کمبود آب، حداکثر تعداد غلاف در بوته سویا (۲۶/۶۷) زمانی به دست آمد که بیوچار به میزان ۵۰ تن در هکتار اعمال شد، پس از آن بیوچار به میزان ۱۰۰ و ۲۵ تن در هکتار دارای بیشترین تعداد غلاف در بوته سویا بود.

۴-۲-۳- تعداد دانه در غلاف

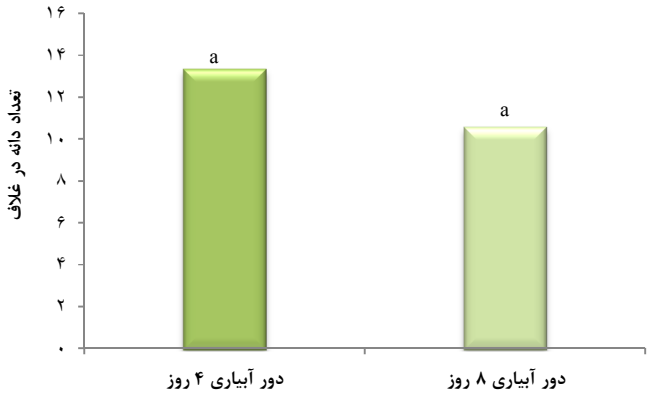
طبق نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) اثرات ساده اکوتیپ، آبیاری و بیوچار در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) بر صفت میانگین تعداد دانه در غلاف معنی‌دار بود و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر این صفت نداشتند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها اکوتیپ‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند و بیشترین تعداد دانه در غلاف مربوط به اکوتیپ‌های رهنان (۱۳/۶۵ عدد) و خمینی‌شهر (۱۴/۳۸) بود. همچنین کمترین تعداد دانه در غلاف مربوط به اکوتیپ‌های شوشتر (۹/۶۲ عدد) و دزفول (۱۰/۲۸ عدد) بود (شکل ۴-۳۱). کاربرد بیوچار تعداد دانه در غلاف را به میزان ۱۲/۷۷ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۳۲). همچنین افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز، تعداد دانه در غلاف را به میزان ۲۰/۷۹ درصد کاهش داد؛ با این وجود تفاوت معنی‌داری بین سطوح آبیاری وجود نداشت (شکل ۴-۳۳).



شکل ۴-۳۱. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف در اکوتیپ های مختلف



شکل ۴-۳۲. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر بیوچار



شکل ۴-۳۳. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر آبیاری

بیشتر بودن تعداد دانه در غلاف در اکوتیپ‌های رهنان و خمینی‌شهر می‌تواند ناشی از پتانسیل بالای این اکوتیپ‌ها برای پر شدن تعداد زیادتری از دانه‌های تشکیل‌شده در غلاف باشد. صادق‌زاده اهری و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی ۲۰ توده شنبلیله ایرانی، تحت شرایط تنش آبی و عدم تنش، تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات زراعی متنوعی را مورد بررسی قرار داده و وجود تفاوت معنی‌داری را میان توده‌ها برای تمام صفات، به‌جز شاخص برداشت در شرایط تنش و تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و بیومس خشک در شرایط آبیاری گزارش نمودند. به نظر می‌رسد که در شرایط تنش کم‌آبی با کاهش رطوبت قابل‌دسترس، تعداد دانه در غلاف به دلیل افزایش تخمک عقیم کاهش یافته است (نیشابوری و هاتفیلد، ۱۹۸۶). کاهش تعداد دانه در غلاف می‌تواند ناشی از ناکافی بودن فتوسنتز و تولید مواد لازم برای رشد تمامی دانه‌ها در اثر تنش کمبود آب باشد. بزازی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که سطوح تنش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری در تعداد دانه در غلاف شنبلیله ایجاد کردند و در سطح تنش شدید، ۱۵/۴ درصد کاهش در تعداد دانه در غلاف ایجاد شد. کلامیان و همکاران (۱۳۸۴) علت کاهش تعداد دانه در غلاف را به عقیمی تخمدان گلچه‌ها در اثر تنش خشکی نسبت دادند. همچنین مندهام و سالیسبری (۱۹۹۵) گزارش کردند که تنش‌های محیطی از طریق ایجاد محدودیت در تأمین مواد فتوسنتزی لازم برای پر کردن دانه‌ها، تعداد دانه در غلاف را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به نظر می‌رسد کاهش جریان فراورده‌های فتوسنتزی به تخمک‌های لقاح‌یافته در اواخر مرحله گلدهی که از نظر نیاز آبی بحرانی می‌باشد، باعث از بین رفتن و یا کاهش تعداد دانه‌ها و افت تعداد دانه در غلاف گردد (کوتروباس و همکاران، ۲۰۰۴).

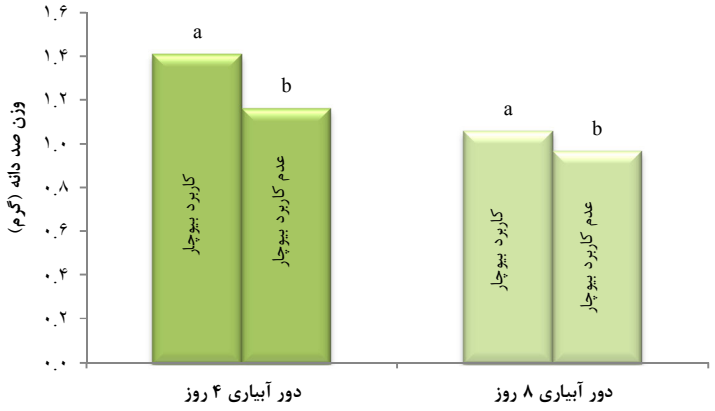
بریهون و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند که تعداد دانه در غلاف در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک به طور معنی‌داری تحت تاثیر مقادیر مختلف بیوچار قرار گرفت. بیشترین تعداد دانه در غلاف با کاربرد بیوچار شاهپسند به میزان ۶ تن در هکتار در مقایسه با عدم کاربرد بیوچار ثبت شد. این بدان معنی است که با افزایش تعداد دانه بارور در هر غلاف، میزان عملکرد در هر هکتار نیز افزایش می یابد.

افزایش تعداد دانه در بوته ممکن است به دلیل تامین مواد مغذی پایدار، افزایش فعالیت فتوسنتزی (پاخاله و همکاران، ۲۰۰۹) و افزایش کارایی انتقال (تاندای و همکاران، ۲۰۰۹) باشد. همچنین، افزایش تعداد دانه در غلاف در سویا با اصلاح خاک دارای pH پایین با بیوچار گزارش شده است (آگبولا و موزز، ۲۰۱۵). برادران نجار (۱۳۹۵) گزارش داد استفاده از بیوچار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک توانسته است از کاهش تعداد دانه در قوزه گلرنگ بکاهد. به نظر می‌رسد کاهش جریان فراورده‌های فتوسنتزی به تخمک‌های لقاح‌یافته در اواخر مرحله گلدهی که از نظر نیاز آبی بحرانی می‌باشد، باعث از بین رفتن و یا کاهش دانه‌ها و افت تعداد دانه می گردد (کوتروباس و همکاران، ۲۰۰۴).

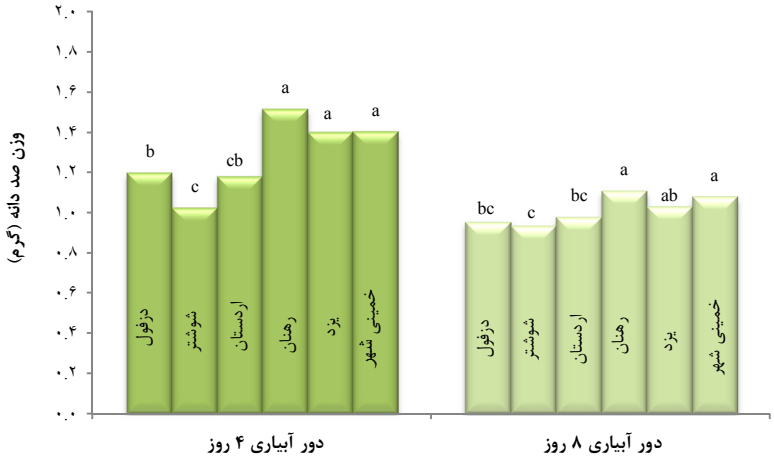
۴-۲-۴- وزن صد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات متقابل دوگانه آبیاری×بیوچار و آبیاری×اکوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بر وزن صد دانه تاثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۴-۲).

نتایج مقایسه میانگین به روش برش‌دهی نشان داد که کاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی وزن صد دانه را به ترتیب به میزان ۱۷/۵۴ و ۸/۶۷ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۳۴). بیشترین میزان وزن صد دانه مربوط به اکوتیپ رهنان در دور آبیاری ۴ روز (۱/۵۱ گرم) بود. با افزایش دور آبیاری به فاصله ۸ روز، کاهش معنی‌داری در وزن صد دانه مشاهده گردید. با وجود پاسخ متفاوت اکوتیپ ها، اثر کاهشی تنش خشکی بر وزن صد دانه در تمام اکوتیپ‌ها مشاهده شد. به‌طوری‌که وزن صد دانه در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر با افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز به ترتیب به میزان ۲۰/۴۳، ۸/۷۰، ۱۷/۲۲، ۲۶/۹۸، ۲۶/۴۴، و ۲۳/۱۱ درصد کاهش نشان داد (شکل ۴-۳۵).



شکل ۴-۳۴. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تاثیر آبیاری و بیوچار



شکل ۴-۳۵. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

به دلیل تاثیر منفی تنش خشکی بر میزان فتوسنتز و تولید ناکافی مواد لازم برای پر شدن دانه‌ها، میانگین وزن هر دانه کاهش یافته و کاهش وزن صد دانه در اثر تنش منطقی به نظر می‌رسد. همچنین تنش خشکی منجر به کاهش دوره پر شدن دانه و در نتیجه کاهش وزن دانه می‌گردد. نتایج منتشرشده توسط دیگر محققین در مورد سایر گیاهان زراعی از جمله رازیانه (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۵)، اسفرزه (خزاعی و همکاران، ۱۳۸۶) و بادرشبو (صفی خانی و همکاران، ۱۳۸۶) نیز حاکی از کاهش وزن هزار دانه

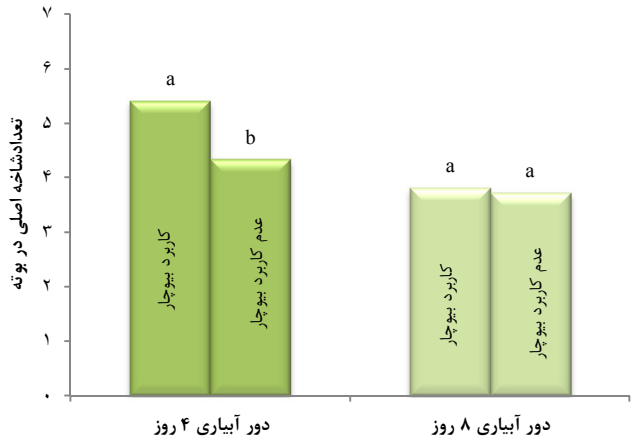
در اثر افزایش فاصله آبیاری و اعمال تنش خشکی است. برادران و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که با افزایش دور آبیاری از ۴ روز به ۱۲، وزن هزار دانه در شنبلیله ۱۷/۹ درصد کاسته شد. جابری و همکاران (۱۳۹۴) بیشترین وزن هزار دانه شنبلیله با میانگین ۸/۳۴ گرم را در تیمار آبیاری با فواصل ۶ روز گزارش نمودند که به میزان ۲۲/۱۸ درصد نسبت به دور آبیاری ۱۲ روز برتری نشان داد. فرهادی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش نمودند که اختلاف بین توده‌های شنبلیله در سطح یک درصد و تیمارهای مختلف خشکی در سطح پنج درصد از نظر وزن هزار دانه معنی‌دار بود ولی اثر متقابل توده و خشکی بر روی این صفت معنی‌دار نبود. بزازی و همکاران (۱۳۹۲) در مقایسه میانگین سطوح خشکی برای صفت وزن هزار دانه در شنبلیله، بیشترین مقدار وزن هزار دانه را در تیمار شاهد (بدون تنش) و کمترین میزان وزن هزار دانه در تیمار تنش شدید (با ۲/۱۴ درصد کاهش نسبت به شاهد) گزارش کردند. همچنین توده اردستان با میانگین ۹/۹۱ گرم، کمترین وزن هزار دانه را به خود اختصاص داد.

اگبولا و موزز (۲۰۱۵) گزارش کردند وزن دانه سویا با بیوچار و کود گاوی به‌طور معنی‌داری افزایش نیافت، اما با افزایش میزان بیوچار و کود گاوی، وزن دانه افزایش یافت. این افزایش می‌تواند به علت افزایش فعالیت فتوسنتزی و تامین مواد مغذی پایدار (پاخاله و همکاران، ۲۰۰۹) و نیز افزایش کارایی انتقال مواد غذایی (تاندایی و همکاران، ۲۰۰۹) باشد.

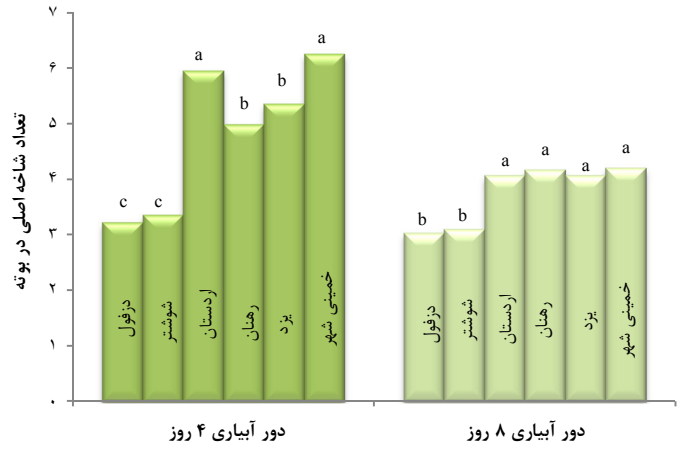
۴-۲-۵- تعداد شاخه اصلی در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات متقابل آبیاری×بیوچار و آبیاری×اکوتیپ در سطح احتمال یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) بر صفت تعداد شاخه اصلی معنی‌دار شد با این وجود اثر متقابل بیوچار×اکوتیپ و اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی بر تعداد شاخه اصلی در این آزمایش معنی‌دار نشد (جدول ۴-۲). نتایج مقایسه میانگین به روش برش‌دهی نشان داد کاربرد بیوچار تعداد شاخه اصلی در بوته

را در دور آبیاری ۴ و ۸ روز به ترتیب به میزان ۱۹/۷۵ و ۲/۶۱ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچـار افـزایش داد (شکل ۴-۳۶). افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز تعداد شاخه اصلی در بوته را در اکوتیـپ‌هـای دزفـول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیـب بـه میـزان ۶/۱۸، ۷/۹۲، ۳۱/۸۴، ۱۶/۶۶، ۲۴/۲۲، و ۳۲/۹۷ درصد کاهش داد (شکل ۴-۳۷).



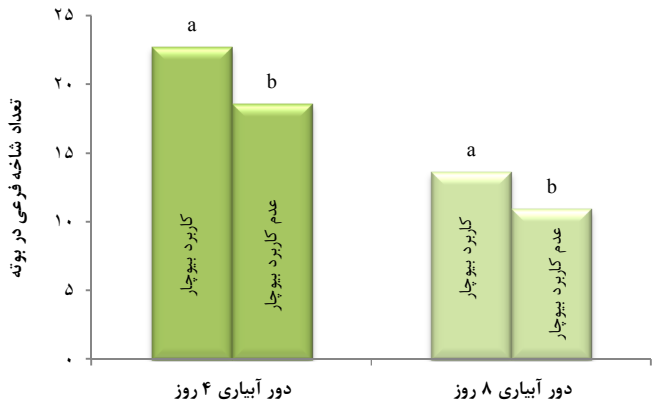
شکل ۴-۳۶. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تاثیر آبیاری و بیوچار



شکل ۴-۳۷. مقایسه میانگین تعداد شاخه اصلی تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

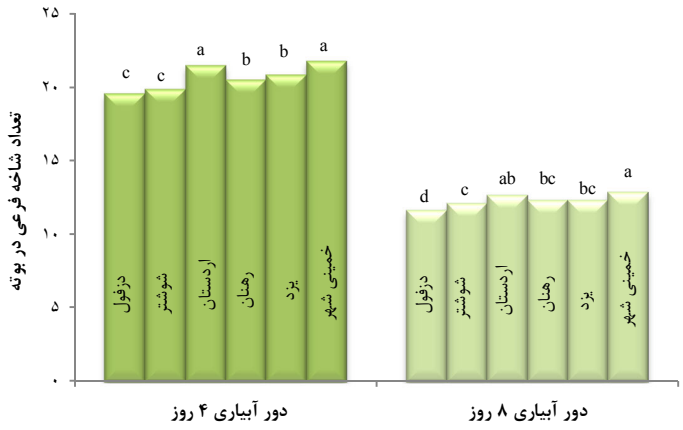
۴-۲-۶- تعداد شاخه فرعی در بوته

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) نشان داد اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی و اثر متقابل دوگانه بیوچار و اکوتیپ بر تعداد شاخه اصلی در بوته در این آزمایش معنی‌دار نمی‌باشد. در بین اثرات متقابل دوگانه، اثر متقابل آبیاری و بیوچار و همچنین آبیاری و اکوتیپ بر تعداد شاخه‌ی فرعی در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد کاربرد بیوچار تعداد شاخه فرعی در بوته را در دور آبیاری ۴ و ۸ روز به ترتیب به میزان ۱۸/۱۳ و ۱۹/۵۲ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش می‌دهد (شکل ۴-۳۸). افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز تعداد شاخه فرعی در بوته را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۴۰/۵۴، ۳۹/۰۹، ۴۰/۹۹، ۳۹/۸۳، ۴۰/۸۹، و ۴۰/۸۸ درصد کاهش داد (شکل ۴-۳۹).



شکل ۴-۳۸. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تاثیر آبیاری و بیوچار

محدود شدن شاخه‌دهی تحت وضعیت خشکی، نوعی سازوکار سازگاری به حساب می‌آید که گیاه به وسیله آن تلاش می‌کند آب را برای مراحل بحرانی‌تر نمو نظیر گلدهی حفظ کنند (اوگبایانا و همکاران، ۱۹۹۸). بنابراین کاهش تعداد شاخه فرعی در وضعیت کم‌آبی را نیز شاید بتوان نوعی سازوکار سازگاری در شنبلیله در نظر گرفت.



شکل ۴-۳۹. مقایسه میانگین تعداد شاخه فرعی تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

نورزاد و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که اثر تیمار تنش خشکی بر صفات ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخهٔ فرعی، وزن خشک، تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در چتر، تعداد دانه در بوته و عملکرد دانه و عملکرد اسانس گشنیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. آنها گزارش نمودند که بیشترین تعداد شاخهٔ فرعی (۹/۶ عدد) در تیمار بدون تنش خشکی با کاربرد کود شیمیایی به دست آمد. خسروی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که دور آبیاری تنها بر طول غلاف در شنبلیله، و مقدار نیتروژن مصرفی بر صفات تعداد شاخه اصلی در بوته و طول غلاف در شنبلیله در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

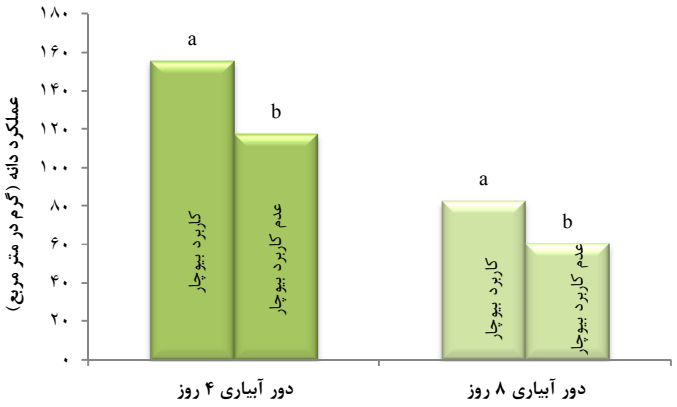
بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق، بر اثر تنش خشکی شاخه‌های جانبی در بوته‌ها کاهش یافت. گیاه برای کاستن از میزان تعرق و تحمل تنش، ارتفاع، قطر ساقه و تعداد شاخه‌های فرعی خود را کاهش می‌دهد. تعداد شاخه‌های جانبی می‌تواند تعیین‌کننده تعداد برگ‌ها و در نتیجه میزان فتوسنتز می‌باشد. نتایج فوق با گزارش‌های سایر محققان مبنی بر حساسیت بالای شاخه‌های فرعی شنبلیله و سایر بقولات به تنش خشکی مطابقت دارد (فریدریک و همکاران، ۲۰۰۱؛ باریوس و اسمیت، ۲۰۰۵). همچنین جابری و همکاران (۱۳۹۴) کاهش تعداد ساقه‌های جانبی گیاه شنبلیله تحت شرایط کمبود آب را نیز گزارش دادند.

بریهون و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که در شرایط کاربرد بیوچار شاهپسند به میـزان ۱۲ تـن در هکتار و به دنبال آن بهبود خاک، گیاهان زراعی با وجود مواد مغذی کافی دارای رشد رویشی و انباشـت ماده خشک بیشتری بودند. هوگان (۲۰۱۱) مشاهده کرد کـه بیوچـار معمـولا دارای توانـایی فعـال کـردن میکروارگانیسم‌های خاک و افزایش ظرفیت نگهداری آب خـاک اسـت و در نتیجـه موجـب افـزایش میـزان فتوسنتز و افزایش ارتفاع و رشد گیاهان می‌گردد. هانسن و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد کـاربرد بیوچـار کـاه و کلش باعث افزایش رشد ساقه و ریشه جو در خاک شنی تحت شرایط آبیاری نرمال شد.

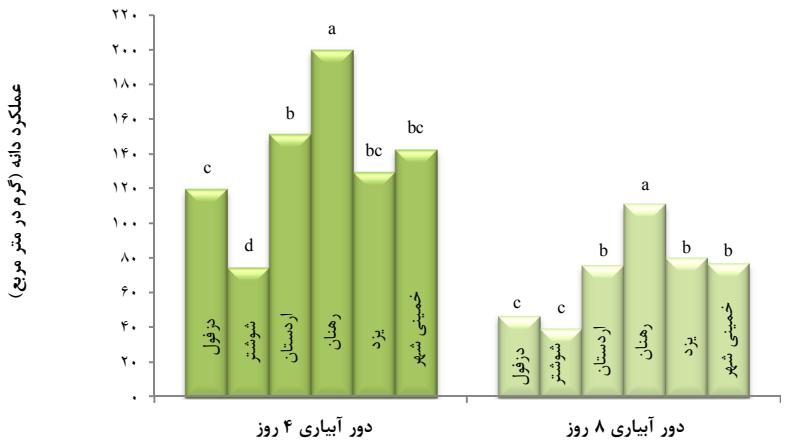
۴-۲-۷- عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد کـه اثـرات متقابـل دوگانـه آبیـاری×بیوچـار و آبیـاری×اکوتیـپ بـر عملکـرد دانـه در سـطح احتمـال ۵ درصـد ($P\leq ۰/۰۵$) معنـی‌دار بـود؛ بـا ایـن وجـود اثـر متقابـل دوگانـه بیوچار×اکوتیپ و اثر متقابل سه‌گانه بیوچار×اکوتیپ×آبیاری بر عملکرد دانه معنی‌دار نبود (جدول ۴-۲).

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها به روش برش‌دهی، کاربرد بیوچـار در دور آبیـاری ۴ و ۸ روز عملکرد دانه را به ترتیب به میزان ۲۴/۳۳ و ۲۶/۶۶ درصد افـزایش داد (شـکل ۴-۴۰). بـا وجـود پاسخ متفاوت اکوتیپ‌ها، اثر کاهشی افزایش دور آبیاری بر عملکرد دانه در تمام اکوتیپ‌ها قابل‌مشاهده بـود. به‌طوری‌که در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد، و خمینی‌شهر با افـزایش دور آبیـاری از ۴ به ۸ روز عملکرد دانه به ترتیب به میزان ۶۱/۲۰، ۴۷/۵۵، ۵۰/۱۲، ۴۴/۷۱، ۳۸/۴۴، و ۴۶/۲۴ درصد کـاهش یافت (شکل ۴-۴۱).



شکل ۴-۴۰. مقایسه میانگین عملکرد دانه تحت تاثیر آبیاری و بیوچار



شکل ۴-۴۱. مقایسه میانگین عملکرد دانه تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

صادق زاده اهری و همکاران (۱۳۹۵؛ الف) اظهار داشتند که تحت شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌های زودگل شنبلیله، تاریخ رسیدگی زودتری نیز دارند. از سوی دیگر ژنوتیپ‌های زودگل و زودرس طول دوره پر شدن دانه بیشتری نیز داشتند که سبب افزایش تجمع مقدار مواد حاصل از فتوسنتز در دانه‌های آن‌ها شده و موجب افزایش عملکرد دانه گردید. صفاری و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که صفات ارتفاع ساقه، تعداد انشعاب و تعداد برگ در بین توده‌های شنبلیله تفاوت معنی‌دار نداشته و صفات تعداد

غلاف، طول غلاف و تعداد بذر در غلاف در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار داشتند. در میان توده‌های مورد ارزیابی توده یاسوج با تعداد غلاف ۶/۶ عدد، طول غلاف ۱۰/۴۴ سانتی‌متر و تعداد بذر در غلاف ۱۴/۶۴ عدد دارای بیشترین عملکرد بذر بود و توده اردستان با تعداد غلاف ۳/۶ عدد، طول غلاف ۷/۳۷ سانتی‌متر و تعداد بذر در غلاف ۱۱/۶۹ عدد از کمترین عملکرد برخوردار بود.

نگهداری وضعیت رطوبتی در حد بهینه و حفظ ساختار پلیمرهای زیستی در شرایط تنش برای بقای گیاه بسیار مهم است (کازنتسوف و شویکووا، ۱۹۹۹). گیاهان تحت شرایط تنش خشکی شاخص سطح برگ خود را از طریق لوله کردن برگ‌ها و یا پیری و ریزش زودهنگام آنها کاهش می‌دهند (سیتسنگ، ۲۰۰۸). گسترش سطح برگ یک فاکتور کلیدی در دریافت تشعشع خورشیدی و تبادل انرژی و آب در گیاه می‌باشد (دجسوس و همکاران، ۲۰۰۱). سینکلر و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که در تولید محصولات زراعی، گسترش سطح برگ برای افزایش دریافت تشعشع خورشیدی و تجمع بیومس ضروری است. برای به وجود آمدن دانه، گیاه نیاز به رشد رویشی مناسب و تولید اندام های تشکیل دهنده‌ی آن در مراحل مختلف رشد رویشی و زایشی دارد. تاثیر خشکی بر هر یک از اجزای تشکیل دهنده‌ی آن می تواند در نهایت منجر به تغییر در عملکرد دانه شود. یکی از اولین نشانه های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول ها خصوصا در ساقه و برگ‌هاست. با کاهش رشد سلول، اندازه‌ی اندام‌ها محدود می شود. به علاوه در شرایط کم آبی، جذب مواد و عناصر غذایی نیز کاهش یافته و بنابراین رشد و توسعه برگ ها محدود می گردد (مندال و همکاران، ۱۹۸۶). متعاقب کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می یابد و بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و نهایتا اجزای عملکرد آن دچار نقصان می‌شود. لباسچی و شریفی عاشورآبادی (۱۳۸۳) تیمارهای آبیاری ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی را روی گیاهان اسفرزه، بومادران، مریم‌گلی، همیشه‌بهار و بابونه بررسی کرده و نتیجه گرفتند با

تشدید تنش خشکی، وزن اندام‌های هوایی و ارتفاع بوته در تمام گیاهان مورد مطالعه کاهش پیدا کرد. حسنی و همکاران (۱۳۸۲) مشاهده کردند با کاهش مقدار آبیاری، ارتفاع بوته، قطر ساقه، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و عملکرد گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) کاهش پیدا کرد. نورزاد و همکاران (۱۳۹۳) گزارش نمودند که تنش خشکی موجب کاهش عملکرد دانه، وزن خشک و وزن ریشه گشنیز شد.

گزارش شده است که اغلب تولید محصولات کشاورزی با کاربرد بیوچار در خاک افزایش می یابد، اما میزان تغییرات بالا بوده و هنوز روشن نیست که تحت چه شرایطی از خاک و اقلیم و چه گونه های گیاهی عملکردهای بالا یا پایین را می توان انتظار داشت (لهمان و راندون، ۲۰۰۶). اخیرا تحقیقات متعددی در رابطه با تاثیر بیوچار به تنهایی یا به همراه سایر عوامل بر رشد و عملکرد گیاهان متفاوت صورت گرفته است. در بررسی تأثیر نیتروژن و بیوچار بر صفات کمی و کیفی ذرت در شرایط کم‌آبیاری نشان داده شد که مصرف بیوچار بر وزن خشک گل آذین، وزن خشک برگ، تعداد برگ، وزن خشک ساقه، قطر ساقه، ارتفاع گیاه، طول بلال و شاخص سطح برگ در ذرت تاثیر معنی‌داری داشت (خالصی، ۱۳۹۳). کیخسروی (۱۳۹۴) اعلام کرد که مصرف بیوچار غنی‌شده با فسفر تاثیر مثبتی بر میزان وزن صد دانه، تعداد دانه و عملکرد دانه در ذرت داشت. احمدی (۱۳۹۳) در بررسی تاثیر سطوح مختلف بیوچار و همزیستی قارچ‌های مایکوریزا آرباسکولار با گیاه ذرت در کاهش آبشویی نیترات تأثیر مثبت بیوچار سبوس برنج را بر میزان وزن خشک اندام‌های هوایی گزارش داد. پانک و همکاران (۲۰۱۶) اظهار داشتند که خاک‌های دارای ۱/۵ تن در هکتار بیوچار نسبت به خاک‌های شاهد (بدون بیوچار) عملکردی مشابهی در گیاه آفتابگردان به دنبال داشتند (۱۴۰ تا ۱۵۰ گرم دانه در هر بوته) که نشان می دهد که استفاده از دوزهای بیوچار کمتر از ۵ تن در هکتار باعث افزایش عملکرد نمی‌شود. با این وجود میزان استفاده از بیوچار ۱۵ تن در هکتار باعث افزایش تولید بذر شد. بریهون و همکاران (۲۰۱۷) بیان نمودند که عملکرد

دانه نخود به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر مقادیر مختلف بیوچار قرار گرفت. در این تحقیق با افزایش میزان بیوچار شاهپسند به ۱۲-۱۸ تن در هکتار عملکرد دانه به طور معنی‌داری نسبت به بقیه تیمارها افزایش یافت. کاربرد بیوچار شاهپسند به طور معنی‌داری باعث افزایش عملکرد دانه نسبت به بیوچار ذرت و تیمار شاهد گردید. اگبولا و موزز (۲۰۱۵) نشان دادند که عملکرد دانه سویا با افزایش میزان بیوچار و کود گاوی افزایش یافت. این امر می‌تواند به علت افزایش میزان مواد مغذی آزاد شده از کاربرد بیوچار و کود گاوی باشد که به نوبه خود تعداد غلاف و تعداد دانه در بوته و همچنین عملکرد دانه را افزایش می دهد. میجر و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که کاربرد بیوچار بر عملکرد دانه ذرت در سال اول تاثیر معنی‌داری نداشت؛ با این حال، در سال‌های بعد، عملکرد ذرت با افزایش میزان بیوچار افزایش یافت و اثر مثبت بیوچار در سال سوم پس از کاربرد بیوچار، بیشتر بود. کشاورز افشار و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تاثیر استفاده از بیوچار (۰، ۱ و ۲ درصد وزن حجمی خاک) بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک خارمریم (*Silybum marianum* L. Gaertn) در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید در یک محیط کنترل‌شده بیان داشتند اگر چه استفاده از بیوچار در مقادیر زیاد اندکی ظرفیت رطوبت خاک را بهبود داد، اما مقدار اثر آن بر عملکرد گیاه تحت تنش خشکی کافی نبود. برای به دست آوردن اثرات مثبت استفاده از بیوچار بر عملکرد خارمریم تحت تنش خشکی، کاربرد با نرخ بالاتر احتمالا ضروری است. یاماتو و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که در مورد نخود سبز (*Pisum sativum* L.) و به عبارتی گیاهان لگومینوز، بیوچار اثر معنی‌داری دارد. میجر و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند به‌کارگیری ۲۰ تن در هکتار بیوچار در خاک ساوانای کلمبیا در مقایسه با محیط کشت غیراصلاح‌شده به افزایش ۲۸ تا ۱۴۰ درصدی مقدار محصول ذرت در دومین و چهارمین سال بعد از اصلاح انجامید. یکی از مشاهدات رایج در اقلیم‌های گرمسیری از خاک‌هایی در برزیل، کلمبیا و اندونزی این است که بیوچار سبوس برنج یا چوب، pH خاک را افزایش و آلومینیوم در دسترس را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش رشد و عملکرد در خاک‌های اسیدی

می‌گردد (لهمان و همکاران، ۲۰۰۳؛ راندون و همکاران، ۲۰۰۴، ۲۰۰۷؛ یاماتو و همکاران، ۲۰۰۶؛ اشتاینر و همکاران، ۲۰۰۷). تحقیقات اخیر بر روی خاک‌های فرسول[1] در مناطق نیمه‌گرمسیری در استرالیا نیز تاثیرات مشابهی را نشان داده است (اشتاینر و همکاران، ۲۰۰۸؛ ون‌زویتن و همکاران، ۲۰۰۸). در مزرعه استفاده از بیوچار عملکرد بسیاری از گیاهان را افزایش می‌دهد به‌خصوص زمانی که همراه با کود معدنی یا کود آلی مثل کود دامی استفاده می‌شود (بلک‌ول و همکاران، ۲۰۰۹).

بیوچار از طریق تاثیرات مستقیم که همان فراهم آوردن مواد مغذی است (سیلبر و همکاران، ۲۰۱۰)، و نیز تاثیرات غیرمستقیم عملکرد محصول را بهبود می‌بخشد. این تاثیرات غیرمستقیم عبارتند از: حفظ مواد مغذی (چان و همکاران، ۲۰۰۷؛ چان و ژو، ۲۰۰۹)، بهبود pH خاک (یاماتو و همکاران، ۲۰۰۶؛ اشتاینر و همکاران، ۲۰۰۷؛ نوواک و همکاران، ۲۰۰۹، ب)، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی در خاک (چنگ و همکاران، ۲۰۰۶؛ یاماتو و همکاران، ۲۰۰۶؛ نوواک و همکاران، ۲۰۰۹، ب)، جابه‌جایی و تغییر شکل عناصر فسفر و گوگرد در خاک (۲۰۰۰؛ دی لوکا و همکاران، ۲۰۰۹)، خنثی‌سازی ترکیبات مسموم‌کننده گیاهی در خاک (واردل و همکاران ، ۱۹۹۸)، بهبود خواص فیزیکی خاک شامل حفظ آب (گلاسر، ۲۰۰۲؛ چان، ۲۰۰۸؛ لایرد، ۲۰۰۹؛ نوواک، ۲۰۰۹، ب)، ارتقاء کیفی همزیستی قارچ مایکوریزا (یاماتو و همکاران، ۲۰۰۶؛ راندون و همکاران، ۲۰۰۷؛ وارناک و همکاران، ۲۰۰۷)، و اصلاح جمعیت و عملکرد میکروبی خاک (پای تیکاینن و همکاران، ۲۰۰۰؛ اشتاینر و همکاران، ۲۰۰۸؛ گرابر و همکاران، ۲۰۱۰) است. بسیاری از این تاثیرات با هم در ارتباط هستند و احتمالا با همکاری یکدیگر بازده محصول را بهبود می‌بخشند.

اثرات سودمند استفاده از بیوچار در شرایط محدودیت آب به‌طور گسترده‌ای گزارش شده است. کاربرد بیوچار موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان تحت تنش خشکی می‌شود. به عنوان مثال، بیوچار در شرایط تنش خشکی باعث افزایش ارتفاع بوته و سطح برگ بامیه (بتول و همکاران، ۲۰۱۵) و ذرت (هایدر

[1] Ferrosol

و همکاران، ۲۰۱۵) شده است. به طور مشابه؛ استفاده از بیوچار، بیوماس گندم رشد یافته در مزرعه را در شرایط نیمه خشک مدیترانه افزایش داد (اولمو و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین بیوچار عملکرد و کیفیت میوه، ذرات جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون[1] گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش را افزایش داد (اختر و همکاران، ۲۰۱۴). موکاهی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که کاربرد بیوچار موجب افزایش مقاومت گیاهچه گوجه فرنگی به پژمردگی در خاک های شنی می‌شود. حفظ رطوبت خاک با کاربرد بیوچار می‌تواند اثرات خشکسالی بر بهره‌وری گیاه زراعی در مناطق مستعد خشکسالی را کاهش دهد. به دلیل توانایی بیوچار برای جذب و حفظ آب به دلیل ساختار متخلخل و سطح بالای آن، بیوچار بهترین گزینه در مناطق خشک است (میجر، ۲۰۱۳).

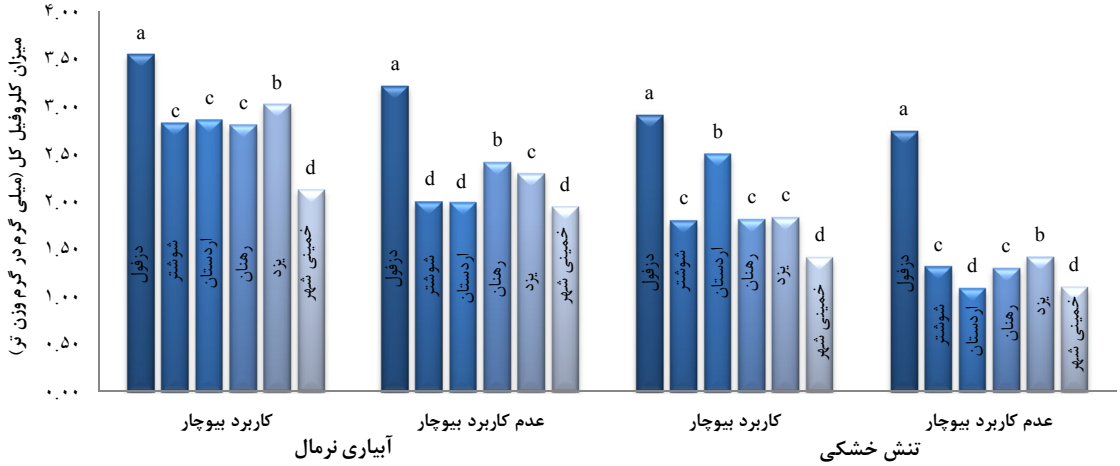
۴-۲-۸- میزان کلروفیل کل برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد تمام اثرات ساده و متقابل تیمارهای آزمایشی بجز اثر متقابل دوگانه‌ی آبیاری و بیوچار بر میزان کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد بیوچار میزان کلروفیل کل را در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی‌شهر به ترتیب به میزان ۹/۴، ۲۹/۱، و ۳۰/۲۰ ، ۱۴/۰۵، ۲۴/۰۵، ۸/۴۴ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد. همچنین در شرایط تنش خشکی، کاربرد بیوچار میزان کلروفیل کل را در اکوتیپ‌های مذکور به ترتیب به میزان ۵/۹۶، ۲۷/۰۵، و ۵۶/۴۳ ، ۲۸/۲۸، ۲۲/۷۳، ۲۲/۷۳ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار افزایش داد (شکل ۴-۴۲).

تنش خشکی با تولید ROS در تیلاکوئیدها قادر به کاهش تراکم بافت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشد (کیانی و همکاران، ۲۰۰۸).

---

[1] Titratable acidity



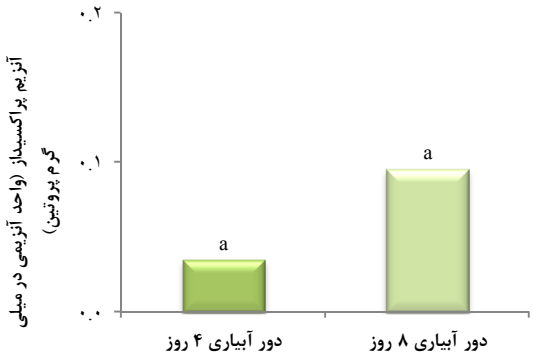
شکل ۴-۴۲. مقایسه میانگین میزان کلروفیل کل اکوتیپ‌های مختلف تحت تاثیر بیوچار در رژیم‌های مختلف آبیاری

سرعت فتوسنتز برگ ممکن است به میزان کلروفیل آن مرتبط باشد، بنابراین کاهش فتوسنتز را تحت تنش می‌توان تا حدی به کاهش غلظت کلروفیل در این شرایط نسبت داد. کاهش کلروفیل که به عنوان عامل محدود کننده غیر روزنه ای فتوسنتز محسوب می‌گردد، در تنش خشکی شدید به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز و تجزیه کلروفیل می باشد(محسن زاده و همکاران، ۱۳۸۲). به دنبال تخریب ملکول کلروفیل در اثر صدمات اکسیداتیو، گیاه رنگی به‌نظر می‌رسد که دلیل آن افزایش و قابل رؤیت شدن رنگیزه‌های محافظ مانند کاروتنوئیدها و آنتوسیانین می‌باشد (چاکر اسکات، ۲۰۰۲). بیژنی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند تنش شدید محتوی کلروفیل b را در شنبلیله به میزان ۳/۱ درصد نسبت به شاهد بدون تنش کاهش داد. اصلانی و همکاران (۲۰۱۱) اظهار داشتند که تنش آبی اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل ریحان داشت و با کاهش مقدار آب خاک، مقدار کلروفیل a ، b و کلروفیل کل کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش محتوای کلروفیل در هنگام مواجه با تنش خشکی، در اثر تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کلروفیل می باشد (ژائو و همکاران، ۲۰۰۸).

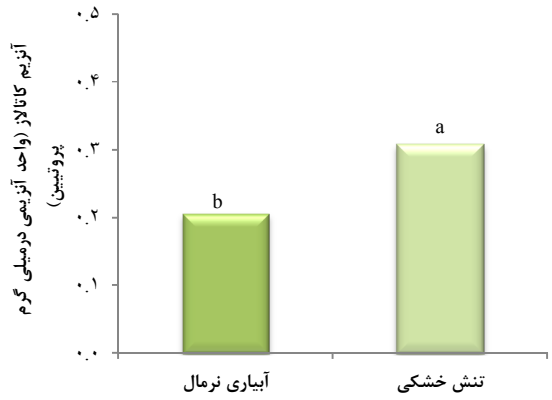
محمدی و همکاران (۱۳۹۵) تفاوت معنی‌داری بین میزان کلروفیل b در تیمارهای کود شیمیایی، کود دامی و بیوچار مشاهده نکردند. با این وجود اختر و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند شاخص محتوای کلروفیل به طور معنی‌داری در گیاهان گوجه فرنگی تیمار شده با بیوچار کاهش یافت. آنها کاهش میزان کلروفیل را به کاهش محتوای نیتروژن برگ به دو دلیل افزایش نسبت کربن به نیتروژن در خاک و جذب آمونیوم در سطح بیوچار و به دنبال آن عدم تحرک نیتروژن در خاک و کاهش جذب آن توسط گیاه، نسبت دادند. ونگ و همکاران (۲۰۱۴) افزایش میزان فتوسنتز و محتوای کلروفیل را *Malus Hupehensis* Rehd. را به‌دنبال کاربرد بیوچار گزارش کردند. یعقوبی (۱۳۹۳) نشان داد افزودن بیوچار به میزان ۴۰ تن در هکتار توانست بر میزان کلروفیل a و کل در گیاه لوبیا چشم بلبلی تاثیر افزاینده‌ای نسبت به شاهد ایجاد کند.

۴-۲-۹- میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان برگ: پراکسیداز و کاتالاز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۲)، تنها اثر ساده آبیاری بر میزان آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در سطح احتمال یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش دور آبیاری از ۴ روز به ۸ روز، آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به ترتیب به میزان ۶۳/۰۹ و ۵۱/۲۰ درصد افزایش یافت (شکل ۴-۴۳ و ۴-۴۴).



شکل ۴-۴۳. مقایسه میزان آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر آبیاری



شکل ۴-۴۴. مقایسه میزان آنزیم کاتالاز تحت تاثیر آبیاری

پراکسیدازها گروه بزرگی از آنزیم‌های دفاعی هستند که در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی تولید می‌شوند. پراکسیدازها به‌عنوان آنزیم‌های سم‌زدای گونه‌های اکسیژن فعال عمل می‌کنند. آنزیم پراکسیداز موجب شکسته شدن پراکسید هیدروژن در سلول می‌شود و بدین شکل از تولید ROSها جلوگیری می‌کند (هیسینووا، ۲۰۱۲). بنابراین با بالا رفتن سطوح فعالیت این آنزیم ها، گیاه کمتر مورد تهاجم ROS قرار می‌گیرد. پراکسیدازها در سیتوزول، دیواره سلولی و واکوئل وجود دارند (آسادا و تاکاهاشی، ۱۹۸۷). قبادی و همکاران (۲۰۱۳) و دی کامپوس و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند تاثیر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود. در مقابل مطالعات زیادی وجود دارد که افزایش در میزان فعالیت پراکسیداز را در شرایط تنش رطوبتی نشان می‌دهد (مانیوانان و همکاران، ۲۰۰۸؛ پومپلی و همکاران، ۲۰۱۰).

کاتالاز نیز یکی از آنزیم‌های دفاعی مؤثر است که تحت شرایط تنش تولید می‌شود. این آنزیم با اثر مستقیم بر پراکسید هیدروژن، سبب کاهش اثرهای سمی آن می‌شود (ونگ و همکاران، ۲۰۰۹). آنزیم کاتالاز به شرایط تنش بسیار حساس می‌باشد و از آن می‌توان به‌عنوان یک نشانگر اعمال تنش استفاده کرد (قبادی و همکاران، ۲۰۱۳). نیاکان و زنگانه (۱۳۹۳) گزارش دادند اعمال تنش خشکی باعث افزایش

فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی ریشه و برگ به غیـر از آنـزیم آسـکوربات پراکسـیداز در شـنبلیله گردیـد. افزایش در فعالیت کاتالاز در گیاهان تحت تنش در سایر مطالعات نیز گزارش شده است (انجـم و همکـاران، ۲۰۱۲؛ حسینووا، ۲۰۱۲). در مقابل ایـن نتـایج، جینـگ و هونـگ (۲۰۰۱) کـاهش معنـی‌داری در فعالیـت کاتالاز تحت تیمار تنش گزارش کردند. لیو و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که فعالیت کاتـالاز تحـت تـنش ملایم بالاتر از تنش خشکی شدید و شرایط آبیاری کامل است. مقدار افزایش در فعالیـت آنـزیم کاتـالاز بـه مرحله رشد گیاه، رقم، نوع بافت گیاهی، شرایط آزمایش، شدت تنش اعمال شده و ... بستگی دارد.

فرهنگی‌آبریز و ترابیان (۲۰۱۷) در بررسی اثر بیوچار بر فعالیت آنزیم‌های آنتـی اکسـیدان در گیـاه لوبیا تحت شرایط تنش شوری بیان داشتند در حالی که تـنش فعالیـت آنـزیم‌هـای آسـکوربات پراکسـیداز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز را در گیاهچه هـا افـزایش داد، کـاربرد بیوچـار چوب افرا به میزان ۱۰ و ۲۰ درصد وزن خاک میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان را کـاهش داد. ونـگ و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند کاربرد بیوچار بـه میـزان ۸۰-۵ گـرم در کیلـوگرم خـاک منجـر بـه کاهش چشمگیر ROS و افزایش فعالیت آنـزیم هـای آنتـی اکسـیدان آسـکوربات پراکسـیداز، پراکسـیداز، کاتالاز و سوپراکسید دسموتاز گشت.

۴-۲-۱۰- میزان پروتئین کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد تنها اثر ساده تیمار آبیاری بر میـزان پروتئین کل بذر در سـطح احتمـال ۱ درصـد ($P\leq ۰/۰۱$) معنـی‌دار بـود. در شـرایط آبیـاری نرمـال میـزان پروتئین کل ۲۴/۵۰ درصد بیشتر از شرایط تنش بود (شکل ۴-۴۵).

شکل ۴-۴۵. مقایسه میزان پروتئین کل بذر تحت تاثیر آبیاری

در شرایط نامساعد محیطی مثل تنش خشکی گونه‌های فعال اکسیژن تولید و در گیاه تجمع می‌یابند، به دنبال آن افزایش پراکسید هیدروژن، منجر به افزایش اکسیداسیون پروتئین‌ها در تعدادی از گونه‌های گیاهی می گردد. کاهش درصد پروتئین در شرایط تنش می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی پروتئین در گیاه باشد (سبک‌دست و خیال‌پرست، ۱۳۸۲). کاهش میزان پروتئین دانه در اثر تنش خشکی در کولتیوارهای مختلف گندم (اشرفی‌پرچین و شبان، ۲۰۱۴) و نخود (مفاخری و همکاران، ۲۰۱۱) گزارش شده است. با این وجود هوبز و موندال (۱۹۸۳) گزارش نمودند که تنش خشکی افزایش پروتئین دانه را به همراه دارد. کندوگان و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق خود بر روی سویا گزارش نمودند که سطوح مختلف تنش خشکی سبب افزایش مقدار پروتئین بذر شد و کمترین درصد پروتئین در تیمار شاهد (آبیاری کامل) به دست آمد.

برادران نجار (۱۳۹۵) گزارش داد در شرایط عدم تنش خشکی کاربرد بیوچار بید نسبت به عدم کاربرد بیوچار میزان پروتئین دانه گلرنگ را به میزان ۴۷ درصد افزایش داد این در حالی بود که با افزایش دور آبیاری به ۱۰ و ۱۴ روز میزان این افزایش به ترتیب ۲۱ و ۹ درصد بود. فرهنگی‌آبریز و ترابیان (۲۰۱۷) گزارش کردند کاربرد بیوچار چوب افرا به میزان ۱۰ و ۲۰ درصد وزن خاک موجب کاهش تجمع

پروتئین در گیاهچه‌های لوبیا تحت شرایط تنش شوری شد. یعقوبی (۱۳۹۳) بیان کرد اگر چه افزودن بیوچار به میزان ۲۰ تن در هکتار تاثیر معنی‌داری بر میزان پروتئن دانه لوبیا چشم بلبلی نداشت اما افزایش میزان بیوچار به ۴۰ تن در هکتار توانست تاثیر افزاینده‌ای بر میزان پروتئن دانه نسبت به شاهد ایجاد کند.

۴-۲-۱۱- میزان قند کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد میزان قند دانه در شرایط مزرعه تحت تاثیر هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

گیاهان جهت مقابله با تنش‌های محیطی مانند خشکی چندین سازوکار عمده را به‌کار می‌گیرند. از جمله این سازوکارها می‌توان به تجمع ترکیبات اسمزی متفاوت اشاره کرد (بوهنرت و همکاران، ۱۹۹۵). از جمله ترکیبات اسمزی که در شرایط تنش خشکی در سلول‌های گیاهی تجمع پیدا می‌کند، می‌توان به قندها اشاره کرد (رامپینو و همکاران، ۲۰۰۶). قندهای محلول به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی، ثبات دهنده غشاهای سلولی و حفظ‌کننده تورژسانس سلول‌ها عمل می‌کنند. در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می‌یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می‌گیرد (اسلاما و همکاران، ۲۰۰۷). بیژنی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند تنش شدید محتوی کربوهیدرات برگ را به میزان ۲۰/۹۸ درصد نسبت به شاهد بدون تنش افزایش داد. رضایی و قربانعلی (۱۳۹۱) نیز کاهش میزان قندهای محلول را در گیاهان بادرشبو در معرض تنش خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد نشان دادند.

فرهنگی‌آبریز و ترابیان (۲۰۱۷) در بررسی اثر بیوچار بر رشد گیاه لوبیا تحت شرایط تنش شوری بیان داشتند اگرچه تنش میزان تجمع قند در گیاهچه ها را افزایش داد با این وجود کاربرد بیوچار چوب افرا به میزان ۱۰ و ۲۰ درصد وزن خاک باعث کاهش میزان قند شد. همچنین ونگ و همکاران (۲۰۱۴)

افزایش میزان قندهای محلول در گیاهچه های *Malus hupehensis* Rehd. را با کاربرد بیوچـار بـه میـزان ۸۰-۵ گرم در کیلوگرم خاک گزارش کردند.

۴-۲-۱۲- میزان روغن کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴-۱) نشان داد میزان روغن دانـه در شـرایط مزرعـه تحت تاثیر هیچ کدام از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

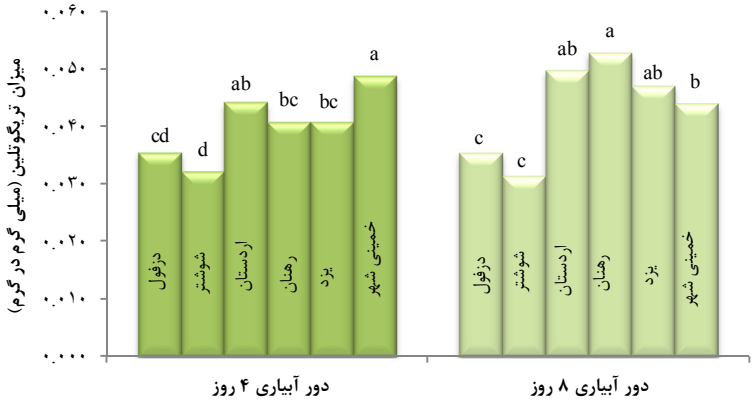
هرچنـد تولید روغن و ترکیب اسیدهای چرب آن تحت کنترل ژنتیک است، امـا تغییـرات ترکیـب اسیدهای چرب بین ژنوتیپ ها و شرایط محیطی مختلف مانند تنش خشـکی و دمـا مشـاهده شـده اسـت (بلالویی و همکاران، ۲۰۱۳). اسیدیکو و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تأثیر تنش خشکی و شوری بر صـفات فیزیولوژیک ژنوتیپ‌های مختلف کلزا بیان کردند که در زمان بروز تنش با افزایش میزان H_2O_2 در گیاه کـه در مقابله با آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نیز افـزایش مـی‌یابـد، میـزان پـروتئین در دانـه نیـز افزایش می‌یابد، اما درصد روغن در دانه کاهش می‌یابد. وجود همبستگی منفی بین میزان پروتئین و روغـن دانه در تحقیقات متعددی نشان داده شده است (واتانیبه و نگاساوا، ۱۹۹۰؛ مگسوان و پاول، ۲۰۱۲). با ایـن وجود در تحقیق حاضر میزان روغن دانه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قـرار نگرفـت. دوایـودی و همکـاران (۱۹۹۶) نیز گزارش نمودند که وقوع تنش خشکی در اواسط فصل رشـد اثـر معنـی داری بـر میـزان روغـن بادام زمینی نداشت. نورزاد و همکاران (۱۳۹۳) گزارش نمودند که تنش خشکی موجب کاهش مقدار روغـن تولیدی گشنیز شد.

برادران نجار (۱۳۹۵) گزارش داد که استفاده از بیوچـار بیـد و گـردو در مقایسـه بـا عـدم کـاربرد بیوچار به ترتیب موجب افزایش ۲۴ و ۹ درصدی در میزان روغن دانه گلرنگ در دور آبیاری ۷ روز شـد. وی همچنین بیان داشت در دور آبیاری ۱۰ روز کاربرد بیوچار تاثیرات مشابهی به دنبال داشت با این وجـود بـه

دلیل تنش ایجاد شده از میزان این تاثیرات کاسته شد. در شـرایط تـنش خشـکی بیوچـار بیـد و گـردو در مقایسه با عدم کاربرد بیوچار به ترتیب موجب افزایش ۱۵ و ۷ درصدی در میزان روغن دانه گلرنگ شدند.

۴-۲-۱۳- میزان تریگونلین دانه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۲) نشان داد اثر متقابـل سـه‌گانـه تیمارهـای آزمایشـی بـر میـزان تریگونلین موجود در بذر در این آزمایش معنی‌دار نبود و در میان اثرات متقابل دوگانه تیمارهـای آزمایشـی تنها اثر متقابل آبیاری و اکوتیپ بر این ترکیب دارویی در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنـی‌دار بـود. برخلاف روند مشابه تغییرات عملکرد دانه در اکوتیپ‌هـای مختلـف بـا اعمـال تیمـار آبیـاری، تغییـر میـزان تریگونلین در بذر در اکوتیپ‌های مختلف روند مشابهی نداشت و اکوتیـپ‌هـا پاسـخ متفـاوتی نشـان دادنـد. به‌طوری‌که میزان تریگونلین در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، و خمینی‌شهر با افزایش دور آبیـاری از ۴ بـه ۸ روز به ترتیب به میزان ۰/۶۷، ۲/۵۱، و ۹/۹۸ درصد کاهش و در اکوتیپ‌هـای اردسـتان، رهنـان ، و یـزد بـا افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ به ترتیب به میـزان ۱۱، ۲۲/۷۲، و ۱۳/۳۱ درصـد افـزایش داشـت (شـکل ۴-۴۶).



شکل ۴-۴۶. مقایسه میانگین میزان تریگونلین تحت تاثیر اکوتیپ و آبیاری

اثر تنش خشکی بر متابولیت‌های ثانویه در برخی از گیاهان دارویی، اغلب به صورت افـزایش بعضـی از ترکیب‌ها (صالحی ارجمند، ۱۳۸۴) یا ثابت ماندن آنهـا گـزارش مـی‌شـود (امیـدبیگی، ۱۳۸۵). اردکـانی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش دادند بیشترین عملکرد انـدام هـوایی در گیـاه بادرنجبویـه از تیمـار بـدون تـنش حاصل شد ولی بیشترین عملکرد اسانس از تیمار ۶۰ درصد ظرفیـت زراعـی و بیشـترین درصـد اسـانس از تیمار ۲۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. جعفرزاده و همکاران (۱۳۹۳) نیـز در بررسـی اثـرات افـزایش پتانسیل رطوبت خاک از ۰/۵ اتمسفر تا ۱۰ اتمسفر بر گیاه دارویی همیشه‌بهار نشان دادند با افزایش سـطح خشکی، محتوای آنتوسیانین ۲۳ درصد، کاروتنوئید ۷۱ درصد، قندهای محلول ۳۶ درصد، محتـوی پـرولین ۴۷ درصد، و رنگیزه‌های فتوسنتزی ۶۳ درصد افزایش یافـت. تـاثیرات نامناسـب تـنش خشـکی در کـاهش عملکرد اسانس در گیـاه ریحـان (حسـنی و همکـاران، ۱۳۸۲؛ رفعـت و صـالح، ۱۹۹۷)، آویشـن (لتچـامو و همکاران، ۱۹۹۴) و اکلیل کوهی (سولیاس و دیانا، ۱۹۹۶) گزارش شده است. باید در نظر داشت کـه همـواره با افزایش تنش، عملکرد اسانس افزایش نمی‌یابد، چرا که در تـنش‌هـای شـدید، گیـاه مقـدار زیـادی از مـواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی نظیر پرولین، گلیسین بتائین و ترکیبات قنـدی همانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان می‌کند تا بتواند وضعیت لازم برای ادامه حیات خود را در ایـن وضـعیت فراهم کند (صالحی ارجمند، ۱۳۸۴). این ترکیبات برای گیاه هزینه‌بر اسـت و گیـاه ایـن هزینـه را از کـاهش عملکرد دانه جبران می‌کند. نقش‌های متعددی از جمله تنظیم چرخه سلولی (مازوکـا و همکـاران، ۲۰۰۰)، تشکیل گره‌های ریشه‌ای در لگوم‌ها (بووین و همکاران، ۱۹۹۰)، محرک قوی متابولیسـم دفـاعی در شـرایط تنش (برگلند، ۱۹۹۴)، نقش فعال در متیلاسیون‌هـای گیـاهی و واکـنش شـب تنجـی بـرگ (مینورسـکی، ۲۰۰۲) برای تریگونلین در گیاه گزارش شده‌اند. برگلون و همکـاران (۱۹۹۶) گـزارش دادنـد کـه نیکـوتین آمید و متابولیت‌های آن به‌خصوص تریگونلین به‌عنوان ناقل پیـام در واکـنش گیاهـان بـه تـنش اکسـیداتیو

عمل می‌کنند. در گیاهان تریگونلین به‌عنوان یک متابولیت دفاعی در واکنش به کمبود آب افزایش می‌یابد و نتیجه‌ی آن کاهش تعداد گره‌ها و عملکرد است.

چو و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند تنش خشکی در بادام‌زمینی سبب افزایش غلظت تریگونلین در ژنوتیپ‌های مختلف بادام زمینی در آبیاری کم در مقایسه با شرایط آبیاری کامل می‌شود. دادرسان و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تجمع تریگونلین در بذرهای شنبلیله از ۲/۹ گرم در کیلوگرم آبیاری کامل به ۳/۱ گرم در کیلوگرم در شرایط کمبود شدید آبیاری افزایش یافت. مقادیر غلظت تریگونلین شنبلیله در این مطالعه در محدوده گزارش شده توسط حسن‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) در اکوتیپ‌های بومی شنبلیله در ایران می‌باشد. احتمالا انباشت بیشتر متابولیت‌های ثانویه در بذور شنبلیله در یک محیط تنش‌زا به‌منظور جلوگیری از تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در رابطه با آسیب‌های ناشی از بازدارندگی نوری است (افشار و همکاران، ۲۰۱۵، سلمه و کلاین واچتر، ۲۰۱۳).

با توجه به اینکه پیش‌ماده‌های بیوسنتز متابولیت‌های ثانوی از متابولیسم اولیه منشأ می‌گیرند، لذا تحت شرایط تنش شدید، متابولیسم اولیه به سمت متابولیسم ثانوی تغییر می‌یابد و منابع ضروری از رشد به سمت دفاع تغییر مسیر می‌دهند (ایریتی و فارو، ۲۰۰۹). دادرسان و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که غلظت تریگونلین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر آبیاری کم قرار گرفت. انباشت تریگونلین در دانه‌های شنبلیله از ۲/۹ گرم در کیلوگرم تا ۳/۱ گرم در کیلوگرم افزایش یافت. تیهاک و همکاران (۱۹۸۸) با کاربرد مقادیر مختلف کود شیمیایی در گیاه گوجه‌فرنگی شاهد افزایش تریگونلین در برگ‌های این گیاه با افزایش مقدار کود بستر کشت بودند. این امر را می توان ناشی از افزایش یون آمونیم (NH_4^+) دانست، که به نوبه خود با ترکیب با آلفا-کتوگلوتارات، آسپارتات و گلوتامات را تولید می‌کند. کوریزمیک اسید با گرفتن یون آمونیم به آنتیهارانیلیک اسید و بعد به تریپتوفان تبدیل می‌شود. در مرحله بعد تریپتوفان از طریق مسیر بیوسنتزی کینورنین، نیکوتین آمیدآدنین دی نوکلئوتید (NAD) را تولید کرده و در نهایت این ترکیب از

طریق مسیر بیوسنتزی سالویج به تریگونلین تبدیل میشود. افزایش وزن خشک اندام هوایی و عملکرد گیاه تحت تاثیر تیمار کودی رابطه مستقیم با افزایش مقدار تریگونلین برگ دارد. لبافی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اجزای عملکرد در دانه گیاه شنبلیله گزارش کردند که برای افزایش عملکرد تریگونلین دانه می‌توان از خصوصیات مرتبط بر عملکرد دانه (شامل وزن هزاردانه و تعداد دانه در غلاف) و درصد تریگونلین دانه در اصلاح گیاه دارویی شنبلیله استفاده کرد. تاکنون پژوهش چندانی در خصوص تأثیر بیوچار روی متابولیت‌ها و ترکیب‌های دارویی صورت نگرفته است.

۴-۲-۱۴- میزان دیاسژنین دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنها سطوح مختلف اکوتیپ میزان دیاسژنین را تحت تاثیر قرار دادند ($P\leq ۰/۰۵$). اثر ساده تیمارهای آبیاری، بیوچار و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارهای آزمایشی بر میزان دیاسژنین بذر معنی‌دار نبود (جدول ۴-۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین میزان دیاسژنین دو اکوتیپ دزفول (۱۸/۰۴) و رهنان (۱۴/۱۲) برتری اکوتیپ دزفول را در این خصوص نشان داد (شکل ۴-۴۷).

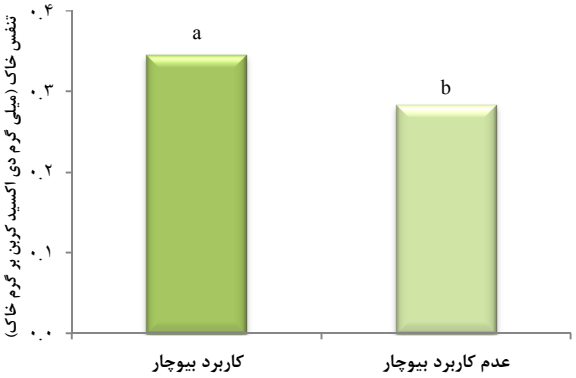
شکل ۴-۴۷. میانگین میزان دیاسژنین در اکوتیپ های مختلف

میزان دیاسژنین در گیاهان معمولا بسیار کم است، حتی اگر میزان آن تحت شرایط تنش افـزایش یابد. تعدادی از مطالعات شواهدی ارائه کرده‌اند که برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه مانند اتیلن و اتفـون (یک دهنده اتیلن) ممکن است تجمع دیاسژنین را در گیاهان افزایش دهند. میـزان دیاسـژنین در شـنبلیله پس از تیمار با ۲۵ و ۵ ppm اتفون به ترتیب ۱۹۵ و ۱۲۶ درصد افزایش یافت (اونسینا و همکـاران، ۲۰۰۲؛ گومز و همکاران، ۲۰۰۴). قبلا نشـان داده شـده اسـت متیـل جاسـمونات مـوثرترین القاکننـده در غلظـت دیاسژنین در گیاهچه‌های شنبلیله است (نامادئو، ۲۰۰۷). تعـدادی از مطالعـات ثابـت کـرده‌انـد کـه متیـل جاسمونات یک القاکننده قدرتمند متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف است. متیـل جاسـمونات بیومـاس سلولی را افزایش داده و تولید فیتوشیمیایی در برخی از گیاهان خانواده Lamiaceae را با اثـرات مثبـت یـا خنثی بر رشد گیاه القا می‌کند (ربکا و دیپا، ۲۰۱۲). مطالعه شمس و همکاران (۲۰۱۴) بـر روی اثـر مـس و نیتروژن بر عملکرد و مقدار آلکالوئید دیاسژنین گیاه شنبلیله نشـان داد کـه مقـدار ۱۰۰ کیلـوگرم در هکتـار کود اوره و ۳۰ کیلوگرم در هکتار کود سولفات مس باعث افـزایش دیاسـژنین بـرگ و عملکـرد خشـک گیـاه می‌شود. در تحقیقی دیگری که بر روی گیاه شنبلیله انجام شد گیاهان تحت رژیـم آبیـاری بهینـه بـه همـراه ۰/۳۷ گرم نیتروژن در هر گلدان بیشترین میـزان تولیـد آلکالوئیـد دیاسـژنین و نیـز سـاپوژنین را دارا بودنـد (باریسویچ و زوپانچیچ، ۲۰۰۲). باریسویچ و زوپانچیچ (۲۰۰۲) گزارش نمودند که بذور شنبلیله تحـت تـنش خشکی حاوی دیاسژنین کمتری نسبت بـه گیاهـان تحـت شـرایط آبیـاری نرمـال بودنـد (تفـاوت ۰/۰۷۷۴ درصد). هر چند ممکن است در مطالعه باریسویچ و زوپانچیچ (۲۰۰۲) تنش خشـکی تحـت تـاثیر تغییـرات در نیتروژن و سایر مواد مغذی مورد استفاده قرار گرفتـه باشـد، بـا ایـن وجـود رشـد رویشـی و متابولیسـم آمینواسید را متوقف نمود و همزمان باعـث تغییـر در متابولیسـم دیاسـژنین و مقـادیر پـایین دیاسـژنین در دانه‌های بالغ گیاهان شنبلیله شد. احتمالا در دسـترس بـودن مـداوم آب یـک عامـل ضـروری در بیوسـنتز دیاسژنین در ارقام حساس است.

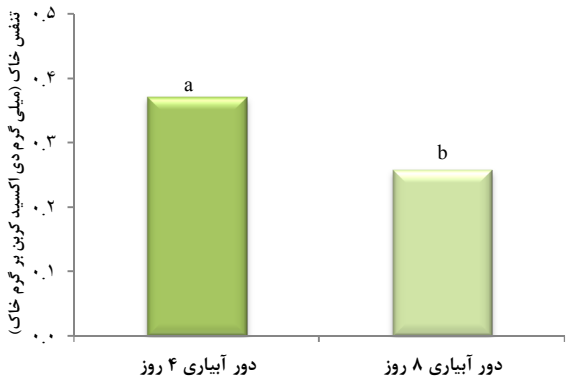
بررسی‌ها از مطالعات پیشین نشان داد که مطالعه چندانی در خصوص تاثیر بیوچار بر متابولیت‌ها و ترکیبات دارویی صورت نگرفته و عمده پژوهش‌ها بر روی رشد و عملکرد می‌باشد. همچنین تحقیقات بر روی جنبه‌های فیزیولوژیکی هم بسیار اندک است. با این وجود احتمال می رود بیوچار با بهبود شرایط ناشی از تنش مانع از تجمع متابولیت های ثانویه که معمولا تحت شرایط تنش افزایش می یابند می‌گردد، از طرفی با افزایش رشد و عملکرد می تواند عملکرد متابولیت را در واحد سطح افزایش می دهد.

۴-۲-۱۵- تنفس خاک

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد اثر ساده آبیاری و بیوچار در سطح احتمال ۱ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بر میزان تنفس خاک معنی‌دار بود (جدول ۴-۲)؛ مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد بیوچار موجب افزایش تنفس خاک به میزان ۱۷/۹۴ درصد نسبت به عدم کاربرد بیوچار گردید (شکل ۴-۴۸). همچنین تنش خشکی تنفس خاک را به میزان ۳۰/۵۷ درصد کاهش داد (شکل ۴-۴۹).



شکل ۴-۴۸. مقایسه میزان تنفس خاک تحت تاثیر بیوچار



شکل ۴-۴۹. مقایسه میزان تنفس خاک تحت تاثیر آبیاری

تنفس خاک شامل اکسید شدن ماده آلی به وسیله ریزجانداران هوازی و در نتیجه خارج شدن دی‌اکسیدکربن از خاک است و بارزترین نشانه معدنی شدن بقایای گیاهی و مواد آلی به وسیله فعالیت‌های میکروبی به شمار می‌رود (آلف، ۱۹۹۵). فعالیت و تنفس میکروبی به عوامل محیطی از جمله دما و رطوبت محیط وابسته می‌باشند که هرکدام به طور مستقیم و یا غیرمستقیم بر این فرآیندهای مهم متابولیکی خاک مؤثر می‌باشند و مهمتر اینکه اثرات متقابل آنها بر فرآیندهای مختلف میکروبی بسیار پیچیده است (ویلیامز، ۲۰۰۷). اغلب تحقیقات آزمایشگاهی و صحرایی نشان میدهد، رطوبت محیط از عوامل مهم و مؤثر بر جمعیت و فعالیت‌های میکروبی خاک از جمله تنفس میکروبی می‌باشد که فعالیت‌های میکروبی خاک را در تمام یا بخشی از سال در اکوسیستم‌های خشک و نیمه خشک از طریق محدود کردن میزان دسترسی ریزجانداران به مواد غذایی قابل دسترس و یا از طریق مرگ آنها به علت میزان پائین پتانسیل آب تحت تأثیر قراردهد (لین و دوران، ۱۹۸۴). رضائی و رئیسی (۱۳۹۴) در بررسی اثرات مواد جاذب رطوبت بر تنفس و زیتوده‌ی میکروبی خاک تحت تنش خشکی نشان دادند با کاهش رطوبت از ۷۰ درصد به ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای تنفس میکروبی در خاک شاهد، کوکوپیت و خاک اره به میزان ۴۹ تا ۷۹ درصد کاهش یافت.

محمدی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی تاثیر بیوچار، کود شیمیایی و کود عالی بر میزان تنفس خاک بیان داشتند که حداکثر و حداقل میزان تنفس به ترتیب در تیمار بیوچار (۰/۵۰ میلی گرم دی اکسیدکربن بر گرم خاک) در روز و تیمار شاهد (۰/۳۸ میلی گرم دی اکسیدکربن بر گرم خاک در روز) مشاهده شد. همچنین آنها تاثیر مثبت کاربرد توام کود دامی و بیوچار را بر تنفس خاک و صفات زراعی در کشت ذرت گزارش دادند. مطالعه پسماندهای جو نیز نشان داد این پسماندها می توانند یک سوبسترای حاوی مقادیر قابل توجه کربن بوده و به عنوان منبع کربن و انرژی مورد استفاده جمعیت میکروب‌های هتروتروف خاک قرار گیرند (نوربخش، ۱۳۸۳) و در نتیجه تنفس میکروبی خاک را افزایش دهند (لکزیان و یزدان‌پناه، ۱۳۸۶).

۴-۳- تعیین کیفیت بیوچار تهیه‌شده- آزمایش گلخانه‌ای

جدول ۴-۳ نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مورفولوژیک در آزمایش انجام‌شده به‌منظور بررسی کیفیت بیوچار تهیه شده و تناسب ماده‌ی اولیه انتخاب‌شده در تهیه بیوچار برای گیاه شنبلیله در شرایط گلخانه را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۳. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در آزمایش بررسی کیفیت بیوچار

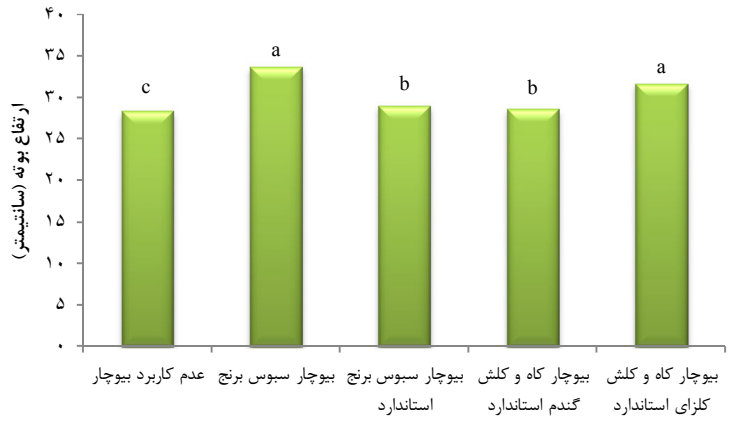
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن دانه در بوته	طول غلاف	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن صد دانه	ارتفاع گیاه	وزن خشک بوته
آبیاری	۱	۰/۰۷**	۰/۸۹^{ns}	۴۲/۳۲**	۷/۸۸^{ns}	۰/۲۰**	۲۲۰/۱۲**	۶/۱۲**
بیوچار	۴	۰/۰۳**	۳/۰۳**	۴/۲۰*	۹/۹۶**	۰/۰۱^{ns}	۵۳/۹۹**	۰/۱۷**
آبیاری× بیوچار	۴	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۲۷^{ns}	۰/۷۲^{ns}	۴/۲۴^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۱۰/۵۶^{ns}	۰/۰۸^{ns}
خطا	۴۰	۰/۰۰۵	۰/۴۶	۱/۴۰	۲/۱۱	۰/۰۱	۴/۹۸	۰/۰۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۱۸/۱۴	۷/۱۶	۱۲/۸۶	۱۳/۳۵	۱۱/۲۳	۷/۳۸	۱۸/۴

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

۴-۳-۱- ارتفاع گیاه

نتایج نشان داد اثر متقابل دو گانه تیمارهای آزمایشی بر ارتفاع گیاه در این آزمایش معنی‌دار نبود. با این وجود اثر ساده‌ی رژیم آبیاری و بیوچار بر ارتفاع گیاه در سطح یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها تنش خشکی ارتفاع گیاه را به میزان ۱۲/۹۸ درصد کاهش (شکل ۴-۵۰) و کاربرد بیوچارهای سبوس برنج، سبوس برنج استاندارد، کاه و کلش گندم استاندارد، و کاه و کلش کلزای استاندارد به ترتیب ارتفاع بوته را به میزان ۱۵/۶۲، ۱/۹۱، ۰/۵۱، ۱۰/۳۲ درصد افزایش داد (شکل ۴-۵۱).

شکل ۴-۵۰. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تاثیر آبیاری



شکل ۴-۵۱. مقایسه میانگین ارتفاع بوته تحت تاثیر بیوچار

کاهش ارتفاع بوته در اثر تنش خشکی در مطالعات متعددی گزارش شده است. حسنی (۱۳۸۵) با تحقیق روی گیاه دارویی بادرشبو نشان داد با کاهش مقدار آب خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، عملکرد ماده تر و خشک در این گیاه کاهش یافت. شخمگر (۱۳۸۸) در بررسی دورهای آبیاری ۴، ۸ و ۱۲ روز در شنبلیله گزارش کرد که بیشترین ارتفاع گیاه در کمترین دور آبیاری به دست آمد. اکبری نیا و همکاران (۲۰۰۵) اثر دورهای آبیاری ۷، ۱۴ و ۲۱ روز را بر سیاهدانه بررسی کرده و مشاهده نمودند که با طولانی شدن دور آبیاری عملکرد دانه و ارتفاع بوته کاهش یافت. این نتایج با نتایج رام و میسرا (۲۰۰۴) روی بابونه و میسرا و سریواستاو (۲۰۰۰) روی نعناع نیز مطابقت دارد.

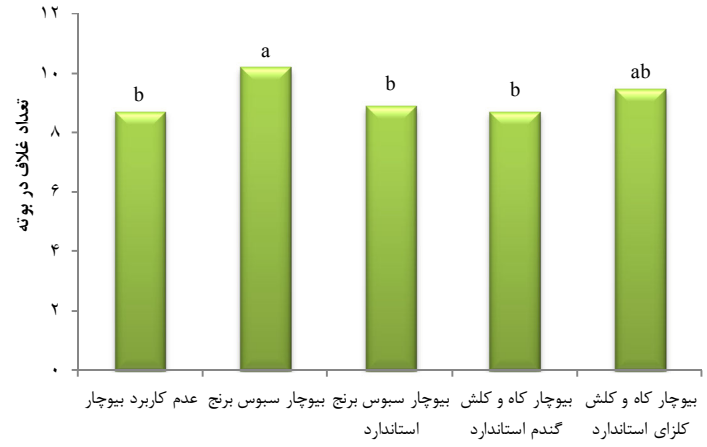
مانان و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند که استفاده از بیوچار در خاک موجب افزایش معنی‌داری در ارتفاع بوته سویا در گیاهان تحت تنش خشکی و گیاهان آبیاری‌شده می‌گردد. ارتفاع بوته با استفاده از بیوچار کود مرغ در خاک در هر دو شرایط تنش خشکی و آبیاری کامل به طور معنی‌داری در مقایسه با شرایط بدون بیوچار افزایش یافت. برادران نجار (۱۳۹۵) نیز گزارش داد که استفاده از بیوچار به تنهایی تأثیر معنی‌داری در بالا بردن ارتفاع بوته داشت و در این بین سهم بیوچار بید در میزان افزایش، بیشتر از بیوچار گردو بود. بیوچار بید افزایش ۱۹ درصدی را نسبت به شاهد (عدم کاربرد بیوچار) به دنبال داشت.

۴-۳-۲- تعداد غلاف در بوته

نتایج نشان داد اثر متقابل دوگانه تیمارهای آزمایشی بر میانگین تعداد غلاف در بوته در این آزمایش معنی‌دار نبود. با این وجود اثر ساده‌ی آبیاری و بیوچار بر میانگین تعداد غلاف در بوته به ترتیب در سطح یک ($P\leq ۰/۰۱$) و پنج درصد ($P\leq ۰/۰۵$) معنی‌دار بود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها تنش خشکی میانگین تعداد غلاف در بوته را به میزان ۱۸/۱۸ درصد کاهش داد (شکل ۴- ۵۲). همچنین کاربرد سبوس برنج، سبوس برنج استاندارد، کاه و کلش کلزای استاندارد به ترتیب میانگین تعداد

غلاف در بوته را به میزان ۱۴/۷۰، ۲/۲۴، ۸/۴۲ درصد افزایش دادند. با این‌وجود کاربرد بیوچار کاه و کلش گندم استاندارد تأثیری بر تعداد غلاف در بوته نداشت و نتایج مشابه کنترل را در پی داشت (شکل ۴-۵۳).

شکل ۴-۵۲. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر آبیاری



شکل ۴-۵۳. مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر بیوچار

میرفخرایی و همکاران (۱۳۸۹) نیز گزارش نمودند که در شرایط تنش خشکی، تعداد نیام و تعداد دانه در نیام ماشک کمتر از شرایط بدون تنش بود. وجود شرایط مطلوب رطوبتی در محیط بدون تنش، موجب افزایش طول دوره کاشت تا گل‌دهی و رسیدن دانه و به دنبال آن افزایش طول دوره پر شدن دانه شده است. در مقابل، شرایط نامطلوب رطوبتی (تنش خشکی) باعث پدید آمدن زودتر اندام زایشی (گل‌ها)

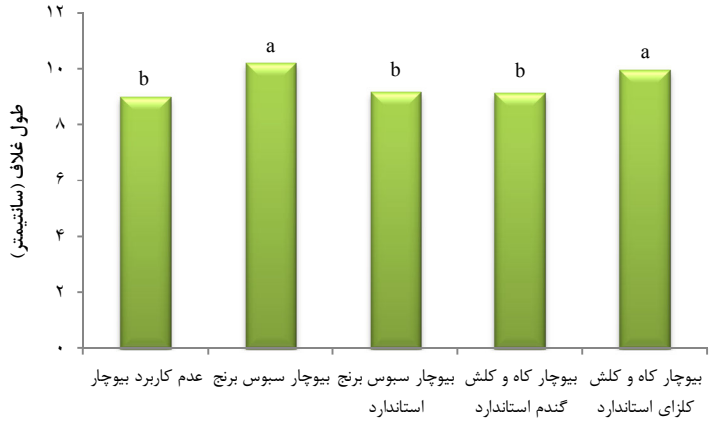
و زودرسی محصول گردید. برادران و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که بیشترین ارتفاع بوته (۳۵/۰۹ سانتیمتر)، تعداد غلاف در بوته (۱۸/۶۳) و تعداد بذر در غلاف (۱۶/۴۲) از دور آبیاری ۴ روز به دست آمد.

اگبولا و موزز (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از بیوچار و کود گاوی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد غلاف در بوته سویا شد. راب و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند که سطوح بیوچار به‌طور معنی‌داری بر تعداد غلاف در بوته ماش (*Vigna radiate*) تأثیر دارد. داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد غلاف (۲۲ عدد) با ۲۵ تن در هکتار بیوچار و کمترین در تیمار شاهد (۱۲ عدد) مشاهده شد. با این وجود در مقادیر کاربرد ۵۰ و ۷۵ تن در هکتار، تعداد غلاف‌ها کاهش یافت؛ این کاهش ممکن است به دلیل نسبت بالا کربن به نیتروژن بیوچار باشد که بعد از افزودن به خاک منجر به عدم تحرک آمونیوم و نیتروژن می‌شود که منجر به کاهش تعداد غلاف می‌شود. ساکسنا و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش دادند که تعداد غلاف در بوته با بیوچار افزایش می‌یابد. باتارای و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که انواع بیوچار اثر معنی داری بر تعداد غلاف در بوته نخود داشتند. کاربرد بیوچار پوسته برنج اثر بیشتری بر تعداد غلاف در بوته نخود داشت. درحالی‌که بیوچار کود مرغی، کود گوسفندی و کود حاصل از بقایای مزرعه تأثیر مشابهی بر تعداد غلاف در بوته داشتند. بیوچار چوب و تیمار شاهد (بدون بیوچار) اثرات مشابه و کمتری بر تعداد غلاف در بوته داشتند.

۴-۳-۳- طول غلاف

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۳) نشان داد اثر متقابل دوگانه تیمارهای آزمایشی و همچنین اثر ساده‌ی رژیم آبیاری بر طول غلاف در این آزمایش معنی‌دار نبود. با این وجود اثر ساده‌ی بیوچار بر طول غلاف در سطح یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد

بیوچارهای سبوس برنج، سبوس برنج استاندارد، کاه و کلش گندم استاندارد، کاه و کلش کلزای استاندارد به ترتیب طول غلاف را به میزان ۱۱/۷۲، ۱/۶۰، ۱/۲۵ و ۹/۵۷ درصد افزایش داد (شکل ۴-۵۴).



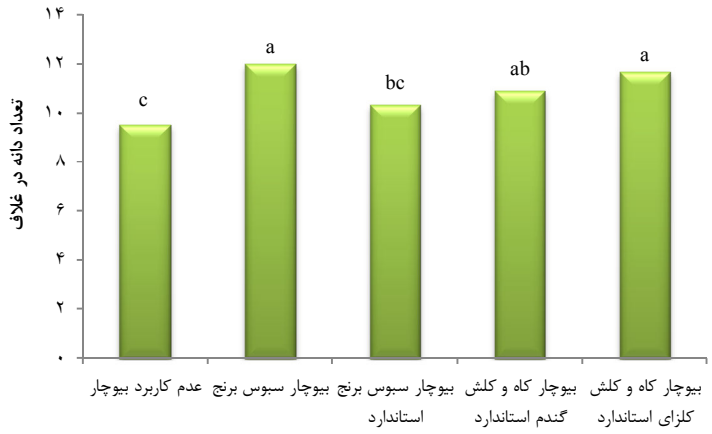
شکل ۴-۵۴. مقایسه میانگین طول غلاف تحت تاثیر بیوچار

شخمگر (۱۳۸۸) در بررسی دورهای آبیاری ۴، ۸ و ۱۲ روز در شنبلیله گزارش کرد که دور آبیاری تأثیری بر طول غلاف ندارد. جابری و همکاران (۱۳۹۴) نشان دادند که دور آبیاری روی طول غلاف شنبلیله تاثیر داشته ولی اثر کودهای زیستی و همچنین اثر متقابل دور آبیاری در کودهای زیستی برای این صفت معنی دار نبوده است. با افزایش دور آبیاری از طول غلاف شنبلیله کاسته شد؛ بیشترین و کمترین طول غلاف با میانگین‌های ۷/۶۳ و ۶/۵۹ سانتی‌متر به ترتیب از دورهای آبیاری ۶ و ۱۲ روز به دست آمدند.

راب و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که طول غلاف در ماش تحت تأثیر بیوچار قرار گرفت و بلندترین غلاف (۹ سانتیمتر) با کاربرد ۲۵ و ۱۰۰ تن در هکتار بیوچار و کوتاه‌ترین غلاف در گلدان‌های شاهد (۶ سانتیمتر) به دست آمد. طول غلاف با استفاده از بیوچار افزایش یافت. دلیل احتمالی این است که بیوچار حداکثر مواد مغذی را فراهم می‌کند که باعث افزایش طول غلاف می‌شود.

۴-۳-۴- تعداد دانه در غلاف

نتایج نشان داد اثر متقابل دوگانه تیمارهای آزمایشی و همچنین اثر ساده‌ی رژیم آبیاری بر میانگین تعداد دانه در غلاف در این آزمایش معنی‌دار نبود. با این وجود اثر ساده‌ی بیوچار بر میانگین تعداد دانه در غلاف در سطح یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد بیوچارهای سبوس برنج، سبوس برنج استاندارد، کاه و کلش گندم استاندارد، کاه و کلش کلزای استاندارد به ترتیب طول غلاف را به میزان ۲۰/۵۵، ۷/۷۶، ۱۲/۶۴و ۱۸/۳۰ درصد افزایش داد (شکل ۴-۵۵).



شکل ۴-۵۵. مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تاثیر بیوچار

برادران و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند بین مقادیر تعداد بذر در غلاف شنبلیله در تیمارهای آبیاری ۴ و ۸ روز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با این وجود بزازی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که سطوح تنش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری در تعداد دانه در غلاف شنبلیله ایجاد کردند و در سطح تنش شدید، ۱۵/۴ درصد کاهش در تعداد دانه در غلاف ایجاد شد.

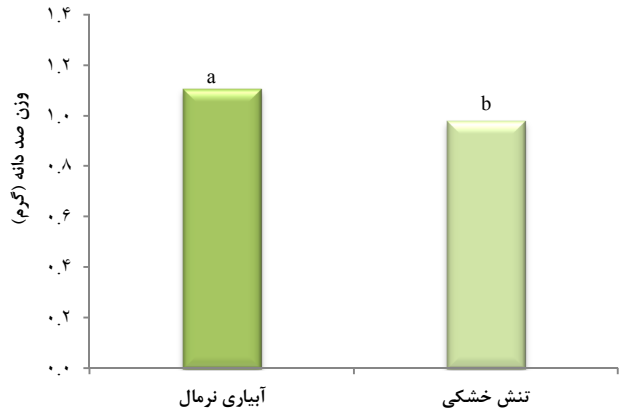
باتارای و همکاران (۲۰۱۵) بیان نمودند که بیوچار پوسته برنج اثر بیشتری بر تعداد دانـه در غـلاف داشد. بیوچار کود مرغی و کود گوسفندی اثر مشابهی بر تعداد دانه در غلاف داشتند. با ایـن حـال، بیوچـار چوب کمترین تأثیر را بر تعداد دانه در غلاف داشت. بیوچار حاصل از بقایـای مزرعـه اثـر مشـابه بـا بیوچـار چوب و شرایط شاهد داشت. راب و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که اثر بیوچـار بـر تعـداد دانـه در غـلاف معنی‌دار است. بیشترین تعداد دانه (۱۱ عدد) با استفاده از ۱۰۰ تن در هکتـار بیوچـار و کمتـرین از تیمـار شاهد (۷ عدد) به دست آمد. سطح بالای بیوچار منجر به تعداد بیشتری از دانه گردید که نشان‌دهنده ایـن است که بیوچار باعث افزایش کارآیی زایشی در ماش مـی‌شـود. سـلیمان و همکـاران (۲۰۱۰) و ساکسـنا و همکاران (۲۰۱۳) نیز نتایج مشابهی را گزارش دادند. ممکن است دلیل احتمالی این باشد که نسـبت کـربن به نیتروژن خاک در فصل گرم پایین‌تر است و بیوچار نسبت کربن به نیتـروژن را افـزایش مـی‌دهـد کـه در افزایش تعداد دانه در غلاف موثر است.

۴-۳-۵- وزن صد دانه

نتایج نشان داد اثر متقابل دو گانه تیمارهای آزمایشی و همچنین اثر ساده بیوچار بر وزن صد دانـه در این آزمایش معنی‌دار نبود. با این وجـود اثـر سـاده‌ی آبیـاری بـر وزن صـد دانـه در سـطح یـک درصـد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها تنش خشکی وزن صد دانـه را بـه میزان ۱۱/۵۵ درصد کاهش داد (شکل ۴-۵۶).

نتایج بررسی‌های انجام‌شده در گیاهان دارویـی مختلـف نظیـر بومـادران، زوفـا، گشـنیز، آنیسـون و شنبلیله نشان داده است که وقوع تنش خشکی در مراحل مختلف رشد (رویشـی و زایشـی) باعـث تـأثیر بـر صفات مختلف مانند ارتفاع بوته، سطح برگ ، عملکرد (دانه و بیوماس) و اجزای عملکرد دانه (تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه)، تاریخ گل‌دهی و رسیدن، طول ریشه می‌شود و مقادیر آنها کمتـر

می گردد (فرهادی و همکاران، ۱۳۹۴؛ فرشادفر و جوادی نیا، ۱۳۹۰؛ جمالی، ۲۰۱۳؛ حیدری و همکاران، ۱۳۹۳؛ رسام و همکاران، ۱۳۹۳؛ صادق زاده اهری و همکاران، ۱۳۸۹؛ شریفی عاشورآبادی و همکاران، ۲۰۰۵؛ نورزاد و همکاران ۱۳۹۳).



شکل ۴-۵۶. مقایسه میانگین وزن صد دانه تحت تاثیر آبیاری

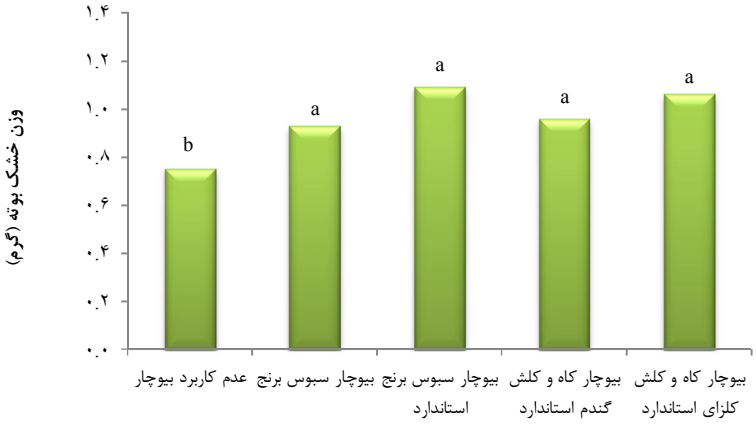
وزن دانه از اجزاء مهم عملکرد بوده و تحت تأثیر خصوصیات ژنتیکی گیاه از نظر پتانسیل تولید دانه، رقابت دانه‌ها، طول دوره پر شدن دانه‌ها و شرایط محیطی قرار دارد (منصوری‌فر و همکاران، ۱۳۹۱). احتمال می‌رود بیوچار با تامین رطوبت موردنیاز برای گیاه به بالا بردن رشد گیاه و توان تولیدی آن کمک کرده و باعث بالا رفتن وزن صد دانه گردد.

۴-۳-۶- وزن خشک بوته

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴-۳) اثرات ساده تیمار آبیاری و بیوچار بر میانگین وزن خشک بوته شنبلیله در سطح یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود اما اثر متقابل آبیاری و بیوچار روی این صفت معنی‌دار نبود. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، تنش خشکی میانگین وزن خشک بوته را به میزان ۵۳/۵۱ درصد کاهش داد (شکل ۴-۵۷). همچنین کاربرد بیوچارهای سبوس برنج،

سبوس برنج استاندارد، کاه و کلش گندم استاندارد، کاه و کلش کلزای استاندارد به ترتیب میانگین وزن خشک بوته را به میزان ۱۹/۳۵، ۳۱/۱۹، ۲۱/۸۷، ۲۹/۲۴ درصد افزایش داد (شکل ۴-۵۸).

شکل ۴-۵۷. مقایسه میانگین وزن خشک بوته تحت تاثیر آبیاری



شکل ۴-۵۸. مقایسه میانگین وزن خشک بوته تحت تاثیر بیوچار

بزاری و همکاران (۱۳۹۲) مشاهده نمودند که با افزایش شدت تنش، عملکرد بیولوژیک در شنبلیله به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و بیشترین مقدار عملکرد بیولوژیک (۱۷/۳۱ گرم در بوته) در تیمار شاهد تولید شد و در تیمار تنش شدید با ۴۳ درصد کاهش نسبت به شاهد کمترین میزان عملکرد بیولوژیک (۹/۸۷ گرم در بوته) تولید گردید. در بررسی دو گیاه دارویی ریحان و شنبلیله تحت تنش

خشکی، نشان داده شد که در انتهای دوره رشد، ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن ساقه، وزن دانه در بوته و ماده خشک تولیدی در اثر تنش نسبت به شرایط نرمال کاهش یافت (احیایی و همکاران، ۱۳۸۸). بر اساس نظر سریوالی و همکاران (۲۰۰۱) کاهش ماده خشک تولیدی طی افزایش سطح تنش خشکی می‌تواند مربوط به کاهش ارتفاع بوته، کاهش سطح برگ و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد. نتایج تحقیقات انجام‌شده روی گیاه شنبلیله بیانگر کاهش وزن ساقه (ریاست و همکاران، ۱۳۸۴)، عملکرد بیولوژیک (صادق‌زاده اهری و همکاران، ۱۳۸۹) و ماده خشک تولیدی (احیایی و همکاران، ۱۳۸۸) بوده که با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق مطابقت دارد. دادرسان و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تنش آبی شدید و متوسط باعث کاهش ۶۵ و ۴۰ درصدی در عملکرد علوفه شنبلیله شد. هنگامی که گیاهان با محدودیت آب مواجه می‌شوند، آنها با به حداقل رساندن تلفات آب از طریق بستن روزنه‌هایشان تمایل می‌یابند، که به نوبه خود دسترسی به CO_2 برای فتوسنتز و تولید ماده خشک محدود می‌شود (سان و همکاران، ۲۰۱۳). علاوه بر این، در یک خاک خشک، جریان مواد غذایی به سیستم ریشه گیاه کاهش یافته و بنابراین جذب مواد مغذی محدود می‌شود که بیشتر تولید ماده خشک را محدود می‌کند (دیاز- لوپز و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است اثرات نامطلوب خشکی بر برگ‌های شنبلیله بیشتر از ساقه است، زیرا نسبت برگ به ساقه در این شرایط کاهش می‌یابد (جهانسوز و همکاران، ۲۰۱۴). کاهش وزن برگ و سطح برگ در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی معمولا به‌منظور کاهش تلفات آب از طریق تعرق رخ می‌دهد (جهانسوز و همکاران، ۲۰۱۴؛ رستمزا و همکاران، ۲۰۱۱). کمبود آب در طی مرحله رشد رویشی بر تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول تأثیر می‌گذارد، بنابراین ارتفاع گیاه و رشد و توسعه برگ کاهش می‌یابد (سمپات کومار و همکاران، ۲۰۱۳).

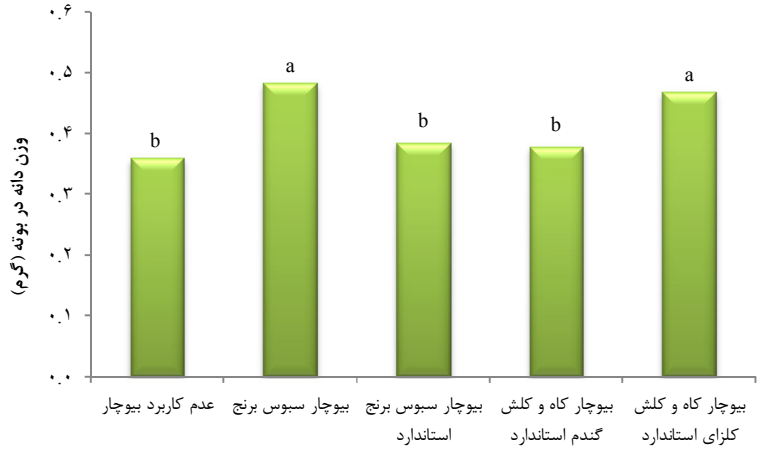
برادران نجار (۱۳۹۵) گزارش داد که در دور آبیاری ۱۰ و ۷ روز کاربرد بیوچار بید و همچنین در دور آبیاری ۱۰ روز کاربرد بیوچار گردو بالاترین میزان وزن خشک ساقه گلرنگ را به خود اختصاص دادند.

پارک و همکاران (۲۰۱۱) اشاره کردند که کـاربرد بیوچـار ۱ درصـد حاصـل از کـود مـرغ موجـب افـزایش بیوماس خشک گیاهان خردل گردید. نتایج یونس و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که مصرف بالاتر بیوچـار مشتق شده از بقایای پنبه (۳ و ۵ درصد) بر بیوماس خشک شاخه‌ها و ریشه‌هـای شـنبلیله در تیمـار بـدون تنش کادمیوم تأثیر معنی‌داری ندارد. بااین‌حال، هنگامی که بیوچار مشـتق شـده از بقایـای پنبـه همـراه بـا تنش کادمیوم اعمال شد، پارامترهای رشد به‌طور معنـی‌داری افـزایش یافـت. باتـارای و همکـاران (۲۰۱۵) بیان نمودند که بیوچار پوسته برنج اثرات بیشتری بـر عملکـرد بیومـاس دارد و بیوچـار کـود مرغـی بعـد از پوسته برنج دارای بیشترین تأثیر بر عملکرد بیوماس مـی باشـد. بیوچـار کـود گوسـفندی، کـود حاصـل از بقایای مزرعه و وضعیت شاهد تقریبا یکسان بوده و از این رو مـی‌تواننـد جـایگزین یکـدیگر شـوند. بیوچـار چوب نیز اثر کمتری از بیوچارهای دیگر بر عملکرد بیوماس داشت. آرتیولا و همکـاران (۲۰۱۲) اثـر بیوچـار ضایعات جنگل کاج بر رشد کاهوی رومی (*Lactuca sativa* L.) و علف برمـودا (*Cynodon dactylon*) در خاک شنی لومی قلیایی را تحت شرایط گلخانه مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد کـه رشـد کـاهو در ابتدا در آزمایش اول با میزان بالای بیوچار (۴ درصد) کـاهش یافـت، در حـالی کـه در آزمـایش‌هـای دوم و سوم بدون استفاده از بیوچار اضافی، رشد کاهو افزایش یافت. در مقابل، میزان بیومـاس علـف برمـودا تحـت تنش خشکی با کاربرد بیوچار به میزان ۲ و ۴ درصد در مقایسـه بـا تیمـار شـاهد (بـدون کنتـرل) افـزایش یافت. آنها پیشنهاد کردند که کاهش رشد کاهو در اولین آزمایش ممکن است به دلیل افزایش pH خاک بـا کاربرد بیوچار باشد و بنابراین یک دوره تنظیم بیوچار خاک ممکـن اسـت بـرای تولیـد زیسـت تـوده کـاهو ضروری باشد و ممکن است استفاده از علف‌های فصل گـرم بـا بیوچـار ضـایعات جنگـل کـاج تحـت تـنش خشکی سودمند باشد.

۴-۳-۷- میانگین وزن دانه در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر متقابل دو گانه تیمارهای آزمایشی بر میانگین وزن دانه در بوته در این آزمایش معنی‌دار نمی‌باشد. با این وجود اثر ساده‌ی آبیاری و بیوچار بر میانگین وزن دانه در سطح یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار بود (جدول ۴-۳). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، تنش خشکی میانگین وزن دانه در بوته را به میزان ۱۷/۳۴ درصد کاهش داد (شکل ۴-۵۹). همچنین کاربرد بیوچارهای سبوس برنج، سبوس برنج استاندارد، کاه و کلش گندم استاندارد، کاه و کلش کلزای استاندارد به ترتیب میانگین وزن دانه در بوته را به میزان ۲۵/۳۹، ۶، ۴/۷۲، ۲۲/۹۵ درصد افزایش داد (شکل ۴-۶۰).

شکل ۴-۵۹. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تاثیر آبیاری



شکل ۴-۶۰. مقایسه میانگین وزن دانه در بوته تحت تاثیر بیوچار

مشابه نتایج بدست آمده، بزاری و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که بیشترین مقدار عملکرد دانه در شنبلیله مربوط به تیمار شاهد بدون تنش بوده است. با افزایش سطح تنش، به‌طور معنی‌داری از میزان این صفت کاسته شد و در نهایت منجر به کاهش ۴۲/۳ درصدی عملکرد در بالاترین سطح تنش نسبت به شاهد گردید. صادق‌زاده اهری و همکاران (۱۳۹۵ب) گزارش نمودند که با وجود تفاوت معنی‌دار عملکرد دانه در واحد سطح، متوسط عملکرد تک بوته در گیاهان شنبلیله تحت شرایط رطوبتی مختلف، تفاوت‌های آماری معنی‌داری نداشت. دادرسان و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که عملکرد دانه و اجزای عملکرد دانه شنبلیله به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر رژیم آبیاری، و اثر متقابل کود و آبیاری قرار گرفتند. برادران و همکاران (۱۳۹۲) نیز در بررسی اثرات دور آبیاری (۴، ۸ و ۱۲ روز) بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه شنبلیله نشان دادند که با افزایش دور آبیاری از ۴ روز به ۱۲ روز، ارتفاع گیاه به میزان ۴۲/۸ درصد؛ تعداد غلاف در بوته به میزان ۳۸/۶ درصد؛ تعداد بذر در غلاف به میزان ۲۹/۱ درصد؛ و وزن هزار دانه به میزان ۱۷/۹ درصد کاهش یافت. کاهش عملکرد دانه و علوفه شنبلیله با کاهش آب مصرفی می‌تواند مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد (سریوالی و همکاران، ۲۰۰۱).

اوگانتوند و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر ذغال چوب بر عملکرد ذرت در غنا گزارش کردند که عملکرد دانه و زیست‌توده ذرت به ترتیب ۴۴ و ۹۱ درصد افزایش یافته است. کارتر و همکاران (۲۰۱۳) گزارش داد که تیمارهای بیوچار باعث افزایش بیوماس نهایی، بیوماس ریشه، ارتفاع بوته و تعداد برگ در تمام دوره‌های زراعی در مقایسه با تیمارهای بدون بیوچار شد.

پاسخ به افزودن بیوچار می‌تواند از طریق یک تعامل مستقیم بین ذرات بیوچار و ریشه‌ها صورت گیرد. ریشه‌های نازک، ریشه‌های مویین یا هیف‌های قارچ‌های مایکوریزا؛ عناصر غذایی، آلاینده‌ها یا آب را از سطح یا از منافذ داخلی بیوچار جذب می‌کنند. تعاملات غیرمستقیم بیوچار- ریشه می‌تواند از تأثیر بر

بیوژئوشیمی خاک (pH، در دسترس بودن عناصر غذایی، تهویه و ظرفیت نگهداری آب (WHC) (جونز و همکاران، ۲۰۱۲)، ساختار و فعالیت جامعه میکروبی اطراف ریشه (پیتیکانن و همکاران، ۲۰۰۰؛ راندون و همکاران، ۲۰۰۷) و آزاد کردن و دریافت سیگنال‌های شیمیایی تأثیرگذار بر رشد ریشه (اسپوکاس و همکاران، ۲۰۱۰) ایجاد گردد. این تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم تعاملات ریشه- بیوچار می‌تواند دامنه‌ای از پاسخ‌ها را در سیستم ریشه آغاز و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد.

نوع بیوچار نقش مهمی در اثربخشی آن بازی می‌کند و خود تابعی از نوع ماده اولیه و شرایط تولید است. مطالعات بسیار کمی جهت مقایسه تأثیر بیوچار بر رشد و عملکرد محصول با استفاده از دامنه وسیعی از انواع بیوچار که خصوصیات آنها به خوبی تعیین شده باشد، انجام شده است (چان و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین گزارش‌های بسیار کمی از تأثیر کاربرد بیوچار سبوس برنج بر عملکرد گیاهان زراعی وجود دارد. مشابه نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر تاثیرات مثبت کاربرد بیوچار سبوس برنج بر محصول ذرت و سویا در سال ۲۰۰۱ توسط FFTC گزارش شد؛ بااین‌وجود دلایل این پاسخ مثبت به‌خوبی شناخته نشده‌اند. هافله و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که کاربرد بیوچار سبوس برنج در خاک فقیر و مواجه با تنش خشکی به‌وضوح تأثیرات مثبت چه به تنهایی و چه به همراه کودهای غیرآلی بر رشد و عملکرد برنج (افزایش ۳۵-۱۶ درصدی در عملکرد دانه) داشته است درحالی‌که افزودن بیوچار به خاک حاصلخیز تأثیر کمی را به دنبال داشت. میلا و همکاران (۲۰۱۳) بیان داشتند که تجزیه بیوچار چوب سریع‌تر از بیوچار پوسته برنج در مقدار دوز پایین (کمتر از ۱/۵ کیلوگرم در مترمکعب) بود، اما این روند با دوز بالاتر (بیشتر از ۳ کیلوگرم در مترمکعب) برعکس شد. مطالعات مشابه نشان داد که بیوچار پوسته برنج دارای ظرفیت نگهداری بهتری نسبت به بیوچار چوب است. با توجه به تفاوت در اندازه ذرات آنها، بیوچار پوسته برنج قادر به اختلاط بهتر به خاک است. باتارای و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی تاثیر بیوچارهای حاصل از پوسته برنج، کود مرغی، کود گوسفندی، کود حاصل از بقایای مزرعه و بیوچار چوب بر نخود سبز نشان

دادند که تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و زیست تـوده بـه‌طـور معنـی‌داری تحـت تـأثیر کـاربرد بیوچار با منشأ مختلف قرار گرفت. کاربرد بیوچار پوسته برنج اثر بیشتری بـر تعـداد غـلاف در گیـاه، تعـداد دانه در غلاف، زیست توده و عملکرد غلاف سبز (تن در هکتار) داشته است.

۴-۴- نتیجه‌گیری

در این بررسی تنش خشکی تأثیر کاهشی معنی‌داری بر عملکرد و اجزای عملکرد در گیاه شنبلیله داشت. با این وجود کاربرد بیوچار در خاک اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را تعدیل و مانع از کاهش رشد و عملکرد شد. کاربرد بیوچار تأثیر مثبت معنی‌داری بر اغلب صفات مورد بررسی در شرایط مزرعه و گلخانه داشت و سبب بهبود صفات زراعی گردید. بنابراین می توان گفت افزودن بیوچار به میزان ۷-۸ درصد وزن حجمی خاک به خاک لومی و لومی شنی با کاهش اثرات نامطلوب ناشی از تنش خشکی شرایط آبی خاک را بهبود داده و در نتیجه کاربرد آن مانع از کاهش رشد و عملکرد در گیاه شنبلیه می گردد.

در این بررسی، کاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی عملکرد را به ترتیب به میزان ۱۵/۴۱ و ۸/۳۵ درصد در شرایط گلخانه و به ترتیب به میزان ۲۴/۳۳ و ۲۶/۶۶ درصد در شرایط مزرعه افزایش داد. تغییرات تریگونلین موجود در بذر با کاربرد بیوچار در هر دو رژیم آبیاری در اکوتیپ‌ها متفاوت بود. به‌طور کلی کاربرد بیوچار با بهبود شرایط مانع از تجمع متابولیت‌های ثانویه نظیر تریگونلین که در شرایط تنش میزان تولید آنها افزایش می‌یابد، می‌گردد؛ اما از طرفی با افزایش عملکرد، موجب افزایش عملکرد تریگونلین در واحد سطح می‌شود.

در بین اکوتیپ‌ها نیز اکوتیپ رهنان نسبت به سایر اکوتیپ‌ها عملکرد بهتری داشت و در شرایط وقوع تنش کاهش عملکرد کمتری را دارا بود. همچنین اکوتیپ‌های دزفول و شوشتر حساس‌ترین اکوتیپ ها در این بررسی بودند.

نتایج این تحقیق می تواند در تولید گیاهان دارویی در شرایط و مناطق خشک مورد توجه قرار گیرد.

۴-۵- پیشنهادات

۱) آزمایش طی چند سال و در مکان‌های مختلف به اجرا درآید.

۲) مطالعات گسترده‌تری در مورد اثرات بیوچار برای دیگر گیاهان زراعی انجام شود.

۳) تحقیق بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیوچار تولیدی و تعیین ارتباط با ویژگی‌های رشدی گیاهان و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک صورت پذیرد.

۴) تحقیق پیرامون سایر سطوح بیوچار و انواع مختلف آن در جهت انتخاب مناسب‌ترین سطح بیوچار با کارایی بالاتر توصیه می گردد.

منابع

منابع

احمدی، م.ر. و جاویدفر، ف. (۱۳۷۹) "روش های ارزیابی و اصلاح مقاومت به خشکی در گونه هـای روغنـی جنس براسیکا"، **نشر آموزش کشاورزی**، ص ۷-۵.

احیایی، ح.ر.، رضوانی مقدم، پ. و امیری ده احمدی، ر. (۱۳۸۸) "بررسـی تـاثیر تـنش خشـکی بـر برخـی شاخص‌های مورفولوژیکی سه گیاه دارویی خار مریم، همیشـه بهـار و سـیاهدانه در شـرایط گلخانـه"، اولین همایش ملی تنش‌های محیطی در علوم کشاورزی، بیرجند، ایران.

اردکانی، م.ر.، عباس زاده، ب.، شریفی عاشور آبادی، ا.، لباسچی، م. و پـاک نـژاد، ف. (۱۳۸۶) "بررسـی اثـر کمبود آب بر کمیت و کیفیت گیاه بادرنجبویـه" **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایـران**، ۲۳(۲): ۲۶۱-۲۵۱.

اکبـری، ز.، قـادری، ا.، کلاتـه جـاری، س.، مهرآفـرین، ع.، و نقـدی بـادی، ح. (۱۳۹۱) "تغییـرات بیوسـنتز تریگونلین تحت تأثیر ترکیبات نیتروژنـه در کشـت ریشـه هـای مـویین شـنبلیله ایرانـی"، **فصـلنامه گیاهان دارویی**، ۱۱(۲): ۱۳۵-۱۲۸.

امیدبیگی، ر. (۱۳۸۵) **"تولید و فراوری گیاهان دارویی"** جلد سوم، انتشارات آستان قـدس رضـوی (بـه نشر). ۳۹۷ صفحه.

امیدبیگی، ر. و محمودی سورستانی، م. (۱۳۸۹) "اثر تنش خشـکی بـر برخـی صـفات مرفولـوژی، میـزان و عملکرد اسانس گیاه گل مکزیکی *Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze" **علـوم باغبـانی ایران**، ۴۱(۲): ۱۵۳-۱۶۱.

بابایی، ک.، امینی دهقی، م.، مدرس ثانوی، س.ع. و جباری، ر. (۱۳۸۹) "اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.) " **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، ۲۶(۲): ۲۳۹-۲۵۱.

برادران نجار، ا. (۱۳۹۵) پایان نامه کارشناسی ارشد "بررسی تاثیر بیوچار و اسید سالسیلیک بر خصوصیات رشدی گیاه گلرنگ تحت تنش کم آبی" دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود.

برادران، ر.، شخمگر، م.، موسوی، غ.ر. و آرزمجو، ا. (۱۳۹۲) "بررسی اثرات دور آبیاری و نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) " **نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)**، ۲۷(۳): ۲۹۵- ۳۰۰.

بزازی، ن.، خدامباشی، م.، و محمدی، ش. (۱۳۹۲)"تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد گیاه دارویی شنبلیله" **مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی**، ۳(۸) :۱۱-۲۳.

بیژنی، م.، یدالهی ده چشمه، پ.، اصغری پور، م.ر. و حیدری، م. (۱۳۹۴) "تاثیر تلقیح میکوریزایی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L) تحت تنش خشکی" **اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی**، ۹(۳(۳۵)): ۳۳۷-۳۵۲.

تنگو، ا.، مهدوی، ع.، و صیاد، ا. (۱۳۹۳) "تأثیر پلیمر سوپرجاذب آکوازورب بر رشد، استقرار و برخی ویژگیهای فیزیولوژیکی نهال آکاسیا تحت تنش خشکی" **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)**، ۲۸(۵): ۹۵۱-۹۶۳.

جابری، م.، برادران، ر.، موسوی، س.غ.، و اقحوانی شجری، م. (۱۳۹۴) "مطالعه اثر کودهای زیستی و دور آبیاری بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella foenum- graecum* L.) " **نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)**، ۲۹(۳): ۴۲۶-۴۳۴.

جعفرزاده، ل.، امیدی، ح.، و بستانی، ع. (۱۳۹۳) "بررسی تنش خشکی و کود زیستی نیتروژنه بر برخی ویژگی های بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis L.*) " **مجله پژوهشهای گیاهی**، ۲۷(۲): ۱۸۰-۱۹۳.

جمالی، ج.، انتشاری، ش.، و حسینی، س.م. (۱۳۹۱) "تاثیر عناصر پتاسیم و روی بر تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی در ذرت (رقم سینگل کراس ۷۰۴) " **فیزیولوژی گیاهان زراعی**، ۴(۱۴): ۳۷-۴۴.

حجازی زاده، ا.، غلامعلی زاده آهنگر، ا.، و قربانی، م. (۱۳۹۵) "تأثیر بیوچار بر جذب سرب و کادمیم لجن فاضلاب کارخانه های کاغذ توسط آفتابگردان (*Heliantus Annus* L) " **دانش آب و خاک**، ۲۶(۱): ۲۵۹-۲۷۱.

حسیبی، پ. (۱۳۸۶) "بررسی فیزیولوژیکی اثر تنش سرما در مرحله‌ی گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف برنج" رساله دکتری دانشگاه شهید چمران اهواز، ۱۴۵ صفحه.

حسن زاده، ا.، رضازاده، ش.، شمسا، س.ف.، دولت آبادی، ر. و زرین قلم، ج. (۱۳۸۹) "مروری بر خواص درمانی و فیتوشیمیایی شنبلیله" **فصلنامه گیاهان دارویی**، ۹(۲):۱-۱۶.

حسنی، ع. (۱۳۸۵) "بررسی تاثیر تنش کم آبی بر رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) " **فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، ۲۲(۳): ۲۵۶-۲۶۱.

حسنی، ع.، امید بیگی، ر. و حیدری شریف آباد، ح. (۱۳۸۲) "بررسی برخی از شاخص های مقاومت به خشکی در گیاه ریحان" **مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی**، ۱۰(۴): ۶۵-۷۴.

حکمت شعار، ح. (۱۳۷۲) "**فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار**" (ترجمه)، چاپ نیکنام تبریز، ۲۵۱ صفحه.

حیدری، ن.، پوریوسف، م. و توکلی، ا. (۱۳۹۳) "تاثیر تنش خشکی بر فتوسنتز، پارامترهای وابسته بـه آن و محتوای نسبی آب گیاه آنیسـون (*Pimpinella anisum* L) " **مجله پژوهش هـای گیـاهی**، ۲۷(۵ (ویژه نامه)): ۸۲۹-۸۳۹.

خادم، ا.، رئیسی، ف. و بشارتی، ح. (۱۳۹۵) "تـأثیر دمـای گرماکافـت بـر خصوصـیات فیزیکـی و شـیمیایی بیوچار ذرت و تصـاعد دی اکسـید کـربن از خـاک" دومـین کنگـره ملـی توسـعه و تـرویج مهندسـی کشاورزی و علوم خاک ایران، خرداد ۱۳۹۵، تهران.

خالصی، خ. (۱۳۹۳) پایان نامه کارشناسی ارشد "تأثیر نیتروژن و بیوچار بر صـفات کمـی و کیفـی ذرت در شرایط کم آبیاری" دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.

خزاعی، ح.، ثابت تیموری، م. و نجفی، ف. (۱۳۸۶) "بررسی اثر رژیم های مختلـف آبیـاری و میـزان کاشـت بذر بر عملکرد ، اجزای عملکرد و کیفیت گیاه داروئی اسفرزه" **مجله پژوهش هـای زاعـی ایـران**، ۵(۱): ۷۷-۸۴.

خسروی، م.، موسوی، س.غ.، و ثقه الاسلامی، م.ج. (۱۳۹۳) "تاثیر سطوح آبیاری، نیتروژن و تراکم بوتـه بـر صفات مورفولوژیکی، عملکرد و بازدهی مصرف آب در شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L)" **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، ۳۰(۵): ۶۸۲-۶۹۱.

رسام، ق.، دادخواه، ع.ر. و خوشنود یزدی، ا. (۱۳۹۳) "ارزیابی تـاثیر کمبـود آب بـر صـفات مورفولوژیـک و فیزیولوژیک گیاه دارویی زوفا. **دانش زراعت**، ۱۰: ۱-۱۲.

رضائی، ر. و رئیسی، ف. (۱۳۸۴) "اثرات مواد جاذب رطوبت بر تنفس و زیتوده میکروبی خـاک تحـت تـنش خشکی" **نشریه زیست‌شناسی خاک**، ۳ (۲):۱۵۱-۱۶۲.

رضایی، ح. و قربانلی، م. (۱۳۹۱) "بررسی اثر خشکی و بر همکنش آن با آسکوربات برمیزان پرولین و میزان قند و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه دارویی بادرشبو *Dracocephalum moldavica L.*" همایش ملی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، بجنورد، خراسان شمالی.

رفیعی، م.، کریمی، م.، نورمحمدی، ق.، و نادیان، ح. (۱۳۸۲) "اثرات تنش خشکی، مقادیر فسفر و روی بر توزیع عمودی سطح برگ، نفوذ نور در سایه اندازه و رابطه آن ها با عملکرد دانه ذرت (*Zea mays* L)" **مجله علوم زراعی ایران**، ۵(۱): ۱-۱۲.

ریاست، م. (۱۳۸۰) "مواد مؤثره و خواص دارویی گیاه شنبلیله" **مجله کشاورزی و صنعت**، ۳۱: ۳۱-۳۲.

ریاست، م.، نصیرزاده، ع.ر.، جعفری، ع.ا.، و جوکار، ل. (۱۳۸۴) "بررسی تحمل به خشکی در جمعیتهای مختلف شنبلیله های چند ساله" **تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران**، ۱۳(۲): ۱۸۹-۲۰۸.

سادات میرئی، م.ح. و فرشی، ع.ا. (۱۳۸۱) "چگونگی مصرف و بهره‌وری آب در بخش کشاورزی" یازدهمین سمینارکمیته ملی آبیاری و زهکشی، تهران.

سایت خبری ایرنا (۱۳۹۶) http://www.irna.ir/fa/News/82766286.

سبک‌دست، م. و خیال‌پرست، ف. (۱۳۸۲) "بررسی اثر تنش کم آبی بر میزان پروتئین محلول و اسید آمینه پرولین در سه رقم نخود ایرانی" **مجله کشاورزی**، ۵(۲): ۲۹-۳۷.

شخمگر، م.، برادران، ر.، موسوس، س.غ.، پویان، م.، بیکی، س. و آرزمجو، ا. (۱۳۸۸) "تأثیر دور آبیاری بر ترکیبات پرولین، کربوهیدرات، کلروفیل و جذب عناصر غذایی در شنبلیله" (چکیده)، اولین همایش ملی تنش های محیطی در علوم کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند.

صادق زاده اهری، د.، حسندخت، م.ر.، کاشی، ع.، امری، ا. و علیزاده، خ. (۱۳۸۹) "گزینش برای تحمل به خشکی در برخی از توده های بومی شنبلیله ایران" **مجله علوم و فنون باغبانی ایران**، ۱۱(۲): ۱۳۲-۱۱۱.

صادق‌زاده اهری، د.، حسندخت، م.ر.، کاشی، ع. و عمری، ا. (۱۳۹۵ الف) "اثر تنش خشکی بر برخی صفات زراعی و فیزیولوژیکی توده‌های شنبلیله بومی ایران" **خشک بوم**، ۶(۱)، ۹۵-۱۰۱.

صادق زاده اهری، د.، حسندخت، م.ر.، کاشی، ع.، و عمری، ا. (۱۳۹۵ ب) "تأثیر برخی ویژگی های زراعی و فیزیولوژیکی بر عملکرد دانه و وزن زیست توده شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) تحت شرایط تنش خشکی" **تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی**، ۳(۲): ۶۷-۸۴.

صالحی ارجمند، ح. (۱۳۸۴) " تأثیر تنشهای محیطی در افزایش متابولیتهای ثانویه در گیاهان" مجموعه مقالات همایش ملی توسعهٔ پایدار گیاهان دارویی، ۳۰۷-۳۰۵.

صفی خانی، ف.، حیدری شریف آباد، ح.، سیادت، ع.، شریفی عاشور آبادی، ا.، سیدنژاد، م. و عباس زاده، ب. (۱۳۸۶) "تاثیر تنش خشکی بر عملکرد و صفات مورفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) " **فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ۲۳(۲): ۱۸۳-۱۹۴.

عباسعلی، م. (۱۳۷۸) پایان نامه کارشناسی ارشد "اثر خشکی در کنجد" دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

عظیم زاده، ی.، و نجفی، ن. (۱۳۹۵) "اثر بیوچار بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک" **مدیریت اراضی**، ۴(۲): ۱۶۱-۱۷۳.

علی‌اصغرزاده، ن. (۱۳۸۵) "روش های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک" انتشارات دانشگاه تبریز. ۵۲۲ صفحه.

فرشاد فر، ع. ا. و جوادی نیا ج. (۱۳۹۰) "ارزیابی ژنوتیپ های نخود از نظر تحمل به خشکی" **مجله به نژادی نهال و بذر**، ۲۷(۴): ۵۱۷ -۵۳۷.

فرهادی، ح.، عزیزی، م.، و نعمتی، س.ح. (۱۳۹۳) "اثر تنش کم آبی بر خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد هشت توده بومی شنبلیله" **نشریه تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک**، ۱(۱): ۱-۱۸.

فرهادی، ح.، عزیزی، م.، و نعمتی، س.ح. (۱۳۹۴) "بررسی اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک و میزان پرولین هشت توده بومی شنبلیله (*Trigonella foenum - graecum* L)" **پژوهشهای زراعی ایران**، ۱۳(۲): ۴۱۱-۴۱۹.

کافی، م.، کامکار، ب. و مهدوی دامغانی، ع.م. (۱۳۸۲) **"واکنشهای گیاهان زراعی به محیط رشد"** انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۹۷ صفحه.

کلامیان، س.، مدرس ثانوی، س. ع.، و سپهری، ع. (۱۳۸۴) "تأثیر تنش کمبود آب در مراحل رشد رویشی و زایشی در هیبریدهای پر برگ و تجاری ذرت" **پژوهش کشاورزی آب، خاک و گیاه در کشاورزی**، ۵: ۵۳-۳۸.

کمال شمس، م. و احمدیان، ا. (۱۳۹۲) "بررسی تاثیر عوامل زنده و غیر زنده بر تولید دیاسژنین در شنبلیله" همایش ملی کاربرد گیاهان دارویی در سبک زندگی و طب سنتی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه.

کوچکی، ع.ر.، زند، ا.، بنایان اول، م.، رضوانی مقدم، پ.، مهدوی دامغانی، ع.، جامی الاسلامی، م. و وصال، ر. (۱۳۸۶) **"اکوفیزیولوژی گیاهی"** جلد ۱، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۴۴۵ صفحه.

کوچکی، ع.، نصیری محلاتی، م. و عزیزی، ک. (۱۳۸۵) "اثر فواصل مختلف آبیاری و تراکم بر عملکرد و اجزاء عملکرد دو توده بومی رازیانه" **مجله پژوهشهای زراعی ایران**، ۱: ۱۳۱-۱۴۰.

کیخسروی، ح. (۱۳۹۴) پایان نامه کارشناسی ارشد "تأثیر بیوچار غنی شده با فسفر بر خصوصیات شیمیایی خاک و عملکرد گیاه ذرت" دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.

لباسچی، م. و شریفی عاشور آبادی، ا. (۱۳۸۳) "شاخص های رشد برخی از گیاهان دارویی در شرایط مختلف تنش خشکی" **فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران،** ۲۰(۳): ۲۴۹-۲۶۱.

لبافی، م.ر.، نقدی‌بادی ح.، زند ا.، قادری؛ ا.، نورمحمدی، ق.، قوامی، ن.، خاج، ح. و مهرآفربن، ع. (۱۳۹۳) "تعیین مهم‌ترین اجزای عملکرد تریگونلین دانه شنبلیله (*Trigonella foenum - graceum* L.) بر مبنای تجزیه علیت و رگرسیون" **فصلنامه گیاهان دارویی،** ۵۰(۲): ۱۴۴-۱۵۵.

لکزیان، ا. و یزدان‌پناه، ن. (۱۳۸۶) "مطالعه سرعت تجزیه بقایای گیاهی گندم، یونجه و گوجه فرنگی در شرایط آزمایشگاهی" **مجله علوم و صنایع کشاورزی،** ۲۱: ۳-۹.

محسن زاده، س.، فرهی آشتیانی، ص.، ملبوبی م. ع. و قناتی، ف (۱۳۸۲) "اثر تنش خشکی و کلروکولین کلراید بر رشد و فتوسنتز گیاهچه دو رقم گندم (*Triticum aestivum*) " **مجله پژوهش و سازندگی،** ۶۰: ۵۶-۶۴.

محمدی، ج.، عمارلو، ع. و صدری، ک. (۱۳۸۶) "بررسی سیتوژنتیک دو رقم شنبلیله مورد کشت در زنجان" خلاصه مقالات پنجمین کنگره علوم باغبانی، دانشگاه شیراز.

محمدی، ع.، اصغری، ح.ر.، غلامی، ا.، خرم دل، س. (۱۳۹۵) " بررسی اثر سیستمهای مختلف خاکورزی و مدیریت تغذیه‌ای بر میزان تنفس خاک و برخی صفات زراعی گیاه ذرت در مرحله تاسلدهی" دومین کنگره بین المللی و چهاردهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. شهریور ۱۳۹۵، رشت، ایران.

مظفریان، و. (۱۳۷۵) "**فرهنگ لغات گیاهان ایران**" انتشارات فرهنگ معاصر ایران، ۵۵۸ صفحه.

منصوری‌فر، س.، شعبان، م.، قبادی، م.، و صباغ‌پور، س.ح. (۱۳۹۱) "بررسی روند پر شدن دانه در ارقام نخود زراعی (*Cicer arietinm* L) در شرایط تنش خشکی و مصرف کود نیتروژنه آغازگر" **پژوهشهای زراعی ایران،** ۱۰(۳): ۶۰۲-۵۹۱.

مهرآفرین، ع.، قوامی، ن.، نقدی‌بادی، ح.، و قادری، ا. (۱۳۹۰) "آلکالوئید تریگونلین، یک متابولیت دارویی ارزشمند گیاهی" **فصلنامه گیاهان دارویی،** ۱۱(۸): ۱۲-۲۹.

میر فخرایی، م.، مقدم، ن.، اهری زاد، س.، و رزبان حقیقی، ا. (۱۳۸۹) "ارزیابی ژنوتیپ های ماشک کرکدار در شرایط تنش خشکی"**دانش کشاورزی و تولید پایدار،** ۲(۱): ۱۳۳-۱۴۱.

نجف پور نوایی، م. (۱۳۷۳) **"مطالبی پیرامون گیاه دارویی شنبلیله"** انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع، شماره ۱۲۷، ۱۸ صفحه.

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

نوربخش، ف. (۱۳۸۳) "بررسی سینیتیک تجزیه بقایای گیاهی جو درخاک در شرایط آزمایشگاه" **مجله پژوهش در علوم کشاورزی،** ۱: ۶۹-۷۷.

نورزاد، س.، احمدیان، ا.، مقدم، م.، دانشفر، ا. (۱۳۹۳) "اثر تنش خشکی بر عملکرد، اجزای عملکرد و اسانس گیاه دارویی گشنیز تحت تأثیر انواع کود آلی و شیمیایی" **به زراعی کشاورزی،** ۱۶(۲): ۳۰۲-۲۸۹.

نیاکان، م. و زنگانه، ا. (۱۳۹۳) "اثر تنش خشکی و سالیسیلات بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گیاه دارویی شنبلیله" **نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران،** ۳۳(۱): ۳۸-۴۵.

یعقوبی، م. (۱۳۹۳) پایان نامه ارشد "تاثیر کود بیولوژیک و بیوچار بر رشد و عملکرد گیاه لوبیا چشم بلبلی" دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.

Aebi, H.E. (1983) "Catalase" In: Bergmeyer, H.U., Bergmeyer, J., Grabi M. "**Methods of enzymatic analysis**" 3rd ed. 3: 273-282, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Germany.

Afshar, R.K., Chaichi, M.R., Ansari Jovini, M., Jahanzad, E., Hashemi, M. (2015) "Accumulation of phenolic compounds in milk thistle seeds under drought stress" **Planta,** 242 (3): 2265-2269.

Agboola, K. and Moses, S.A. (2015) "Effect of biochar and cowdung on nodulation, growth and yield of soybean (*Glycine max* L. Merrill), Department of Soil and Environmental Management, Kogi State University, Anyigba, Kogi State, Nigeria.

Ahmad Alhadi, F., Taha Yasseen, B. and Jabr, M. (1999) "Water stress and gibberellic acid effects on growth of fenugreek plants" **Irrigation Science**, 18: 185-190.

Akbarinia, A., Khosravifard, M., Sharifi Ashoorabadi, E. and Babakhanlou, P. (2005) "Effect of Irrigation intervals on yield and agronomic characteristics of black cumin (*Nigella sativa*)" **Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant Reserch**, 21(1): 65-73.

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

Alef, K. (1995) "Soil respiration" In: Alef, K. and Nannipieri, P. "**Methodes in applied soil microbiology and biochemistry**" Academic Press, London, pp. 214-219.

Amonette J. and Joseph S. (2009) "Characteristics of biochar: Microchemical properties" In: Lehmann J. and Joseph S. "**Biochar for environmental management**: **Science and Technology**", Earthscan, London, pp. 33-52.

Anderson, C.R., Condron, L.M., Clough, T.J., Fiers, M., Stewart, A., Hill, R.A., and Sherlock, R.R. (2011) "Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus " **Pedobiologia**, 54: 309-320.

Andre, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefevre, I., Aliaga, C.A.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Larondelle, Y. and Evers, D., (2009) "Gene expression

changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress" **Phytochemistry**, 70(9): 1107-1116.

Anis, M., Aminuddin, E. (1985) "Estimation of diosgenin in seeds of induced autoploid *Trigonella foenum graecum*" **Fitotrapia**, 56: 51-2.

Anjum, S.A., Farooq, M., Xie, X., Liu, X. and Ijaz, M.F. (2012) "Antioxidant defensesystem and proline accumulation enables hot pepper to perform better underdrought" **Sci. Hortic.**, 140: 66-73.

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

Artiola, J.F., Rasmussen, C., and Freitas, R. (2012) "Effects of a biochar-amended alkaline soil on the growth of romaine lettuce and Bermuda grass" **Soil Sci.**, 177: 561-570.

Asada, K. and Takahashi, M. (1987) "Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis" In: Kyle, D.J. et al. "**Photoinhibition**" Elsevier, pp. 227-287.

Asai, H., Samson, B.K., Stephan, H.M., Songyikhangsuthor, K., Homma, K., Kiyono, Y., Inoue, Y., Shiraiwa, T., and Horie, T. (2009) "Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield" **Field Crops Research**, 111: 81-84.

Aslani, Z., Hasani, A., Rasouli Sedgheiani, M.H., Sefidkan, F. and Berom, M. (2011) "Effect of Arbuscular mycorhiza (*Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) on growth, chlorophyll and phosphorus uptake in basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress" **Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research**, 27: 486-471.

Ashrafi-Parchin, R. and Shaban, M. (2014) "Study on protein Changes in wheat under drought stress" **International journal of Advanced Biological and Biomedical Research**, 2: 317-320.

Aston, S., Doerr, S., and Perrott, A.S. (2013) "The impacts of pyrolysis temperature and feedstock type on biochar properties and the effects of biochar application on the properties of sandy loam" Geophysical Research Abstracts.

Baldock, J.A. and Smernik, R.J. (2002) "Chemical composition and bioavailability of thermally altered *Pinus resinosa* (Red pine) wood" **Organic Geochemistry**, 33: 1093-1109.

Bamminger, C., Marschner, B., and Juschke, E. (2014) "An incubation study on the stability and biological effects of pyrogenic and hydrothermal biochar in two soils" **European Journal of Soil Science**, 65: 72-82

Baricevic, D. and Zupancic, A., (2002) "The impact of drought stress and/or nitrogen fertilization in some medicinal plants" **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, 9(2-3): 53-64.

Barrios, A.N., Hoogenboom, G. and Ne Smith, D.S. (2005) "Drought stress and the distribution of vegetative and reproductive of bean cultivar" **Sci. Agric.**, 62:18-22.

Batool, A., Taj, S., Rashid, A., Khalid, A., Qadeer, S., Saleem, A.R., and Ghufran, M.A. (2015) "Potential of soil amendments (biochar and gypsum) in increasing water use efficiency of *Abelmoschus esculentus* L." **Moench. Front. Plant Sci**., 6: 1-13.

Behboudian, M.H., Turner, N.C., Ma., Q., and Palta, J.A. (2001) "Reactions of chickpea to water stress: yield and seed composition" **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 81: 1288-1291.

Bellaloui, N., Mengistu, A., Kassem, A. (2013) "Effects of Genetics and Environment on Fatty Acid Stability in Soybean Seed" **J.FNS.**, 4(9A): 165-175.

Berglund, T. (1994) "Nicotinamide, a missing link in the early stress response in eukaryotic cells- a hypothesis with special reference to oxidative stress in plants" **FEBS Lett.**, 351: 145-9.

Berglund, T., Kalbin, G., Strid, A., Rydstrom, J., Ohlsson, A.B. (1996) "UV-B and oxidative stress induced increase in nicotinamide and trigonelline and inhibition of

defensive metabolism induction by poly (ADPribose) polymerase inhibitor in plant tissue" **FEBS lett.**, 380: 188-93.

Berihun, T., Tolosa, S., Tadele, M. and Kebede, F. (2017) "Effect of biochar application on growth of garden pea (*Pisum sativum* L.) in acidic soils of Bule Woreda Gedeo zone Southern Ethiopia" **International Journal of Agronomy**, 1-9.

Bhattarai, B., Neupane, J., Dhakal, S.P., Nepal, J., Gnyawali, B., Timalsina, R., and Poudel, A. (2015) "Effect of biochar from different origin on physio-chemical properties of soil and yield of garden pea (*Pisum sativum* L.) at Paklihawa, Rupandehi, Nepal" **World Journal of Agricultural Research**, 3(4): 129-138.

Blackwell, P., Krull, E., Butler, G., Herbert, A., and Solaiman, Z. (2010) "Effect of banded biochar on dry land wheat production and fertilizer use in south-western Australia: an agronomic and economic perspective" **Australian Journal of Soil Research**, 48: 531-545.

Bohnert, H., Nelson, D. and Jensen, R. (1995) "Adaptations to environmental stress" **The Plant Cell**, 7: 1099-1111.

Bohnert, H.J., Nelson, D.E. and Jensen, R.G. (1995) "Adaptations to environmental stresses" **The Plant Cell**, 7: 1099-1111.

Boivin, C., Camut, S., Malpica, C.A., Truchet, G., and Rosenberg, C. (1990) "*Rhizobium meliloti* genes encoding catabolism of trigonelline are induced under symbiotic conditions" **Plant cell**, 2: 1157-1170.

Boyer, J.S. (1970) "Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean and sunflower at various leaf water potentials. **Plant Physiology**, 46: 233-234.

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

Briggs, C.M., Breiner, J.M., and Graham, R.C. (2005) "Contributions of pinus ponderosa charcoal to soil chemical and physical properties" The ASA–CSSA–SSSA International Annual Meetings, Salt Lake City, U.S.A.

Candogana B., Sincikb, M., Buyukcangaza, H., Demirtasa, C., Goksoyb, A.T., Yazgan, S., (2013) "Yield, quality and crop water stress index relationships for deficit irrigated soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] in sub humid climatic conditions" **J. Agric. Water Manage.**, 118:113-121.

Carter, S., Shackley, S., Sohi, S., Suy, T. B., and Haefele, S. (2013) "The impact of biochar application on soil properties and plant growth of pot grown lettuce (*Lactuca sativa*) and cabbage (*Brassica chinensis*)" **Agronomy**, 3: 404-418.

Chalker-Scott, L. (2002) "Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues?" **Advances in Botanical Research**, 37: 103-106.

Chan, K.Y. and Xu, Z.H. (2009) "Biochar - nutrient properties and their enhancement" In: Lehmann J. and Joseph S. (Eds.) "**Biochar for Environmental Management: Science and Technology**" Earthscan, London, UK. pp. 67.

Chan, K.Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., Joseph, S. (2008) "Using poultry litter biochars as soil amendments" **Australian Journal of Soil Research**, 46: 629-634.

Chance, B., Maehly, A.C. (1955) "Assay of catalase and peroxidase" **Methods in enzymology**, 2: 764-775.

Chen, J., Zhu, D. and Sun, C. (2007) "Effect of heavy metals on the sorption of hydrophobic organic compounds to wood charcoal" **Environmental Science of Technology**, 41: 2536-3541.

Cheng, C.H., Lehmann, J., Thies, J.E., Burton, S.D., and Engelhard, M.H. (2006) "Oxidation of black carbon by biotic and abiotic processes" **Organic Geochemistry**, 37: 1477.

Chiang, K.Y., Huang, H.J. and Chang, C.N. (2007) "Enhancement of heavy metal stabilization by different amendments during sewage sludge composting process" **Environmental Engineering and Management journal**, 17(4): 249-256.

Cho, Y., Kodjoe, E., Puppala, N., and Wood, A.J. (2011) "Reduced trigonelline accumulation due to rhizobial activity improves grain yield in peanut (*Arachis*

hypogaea L.)" **Acta agriculturae scandinavica, Section B- Soil and plant sciences**, 61(5): 395-403.

Conway, G. (1999) "**The Doubly Green Revolution**" Cornell University Press, Ithaca, NY, US.

Dadrasan, M., Chaichi, M.R., Pourbabaee, A.A., Yazdani, D. and Keshavarz-Afshar R. (2015) "Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of fenugreek" **Industrial Crops and Products**, 77: 156-162.

Daneshian, J., Nourmohammadi, G., and Jonoubi, P. (2002) "Evaluation of yield the model difference and grain yield components of soybean under drought stress condition" Abstracts the 7th Iranian Congress of Crop Science, Karaj. Iran.

Dang, X.P., Shan, L., Zhang, H., Turner, N.C. (2006) "Improving agricultural water use efficiency in arid and semiarid areas of china" **Agricultural water management**, 80: 23-40.

De Campos, M.K.F., de Carvalho, K., de Souza, F.S., Marur, C.J., Pereira, L.F.P., Filho, J.C.B. and Vieira, L.G.E. (2011) "Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline" **Environ.Exp. Bot.**, 72: 242-250.

De Jesus, Jr., W.C., do Vale, F.X.R., Coelho, R.R., and Costa, L.C. (2001) "Comparison of two methods for estimating leaf area index on common bean" **Agron. J.**, 93: 989-991.

DeLuca, T.H., MacKenzie, M.D., Gundale, M.J. (2009) "Biochar effects on soil nutrient transformations" In: Lehmann, J., Joseph, S. (eds.) "**Biochar for environmental management: science and technology**" Earthscan, London, pp 251-270.

Devi, P., and Saroha, A.K. (2013) "Effect of temperature on biochar properties during paper mill sludge pyrolysis" **International Journal of Chemtech Research**, 5: 682-687.

Diaz-Lopez, L., Gimeno, V., Simon, I., Martinez, V., Rodriguez-Ortega, W.M., and Garcia-Sanchez, F. (2012) "*Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy

under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance" **Agric. Water Manage**. 105: 48-56.

Dwivedi, S.L., Nigam, S.N., Nageswara Rao, R.C., Singh, U., Rao, K.V.S. (1996) "Effect of drought on oil, fatty acids and protein contents of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seeds" **Field Crops Res.**, 48 (2-3): 125-133.

Eastman, C.M. (2011) Master of Science Thesis "Soil physical characteristics of an aeric ochraqualf amended with biochar", Ohio State University, USA.

Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F. and Esfandiari, M. (2007) "The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling" **Journal of Notulae Botanicae Horti Agribotanici Cluj-Napoca**, 35: 48-56.

Fang, Y., Singh, B., singh, B.P., and Krull, E. (2014) "Biochar carbon stability in four contrasting soils" **European Journal of Soil Science**, 65: 60-71.

FAO (2006) "World reference base for soil resources 2006" Food and agriculture organization of the United Nations, Rome, 128 pp.

Farhangi-Abriz, S. and Torabian, S. (2017) "Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress" **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 137: 64-70.

Farrell, M., Kuhn, T.K., Macdonald, L.M., Maddern, T.M., Murphy, D.V., Hall, P.A., Singh, B.P., Baumann, K., Krull, E.S., and Baldock, J.A. (2013) "Microbial utilization of biochar derived carbon" **Science of the Total Environment**, 465: 288-297.

FFTC (2006) "Managing the carbon cycle" Katanning workshop. WWW.amazingcarbon.com.

Frederick, J.R, Camp, C.R. and Bauer, J.B. (2001) "Drought stress effects on branch and main stem seed yield and yield components of determinate soybean" **Crop Sci.**, 41: 759-763.

Gaskin, J.W., Speir, R.A., Harris, K., Das, K.C., Lee, R.D., Morris, L.A., and Fisher, D.S. (2010) "Effect of peanut hull and pine chip biochar on soil nutrients, corn nutrient status, and yield" **Agronomy Journal**, 102: 623-633.

Ghanadi, A. (2005) "**Iranian Herbal Pharmacopiea**" Ministry of Health, Iran, pp: 497-505.

Ghobadi, M., Taherabadia, S., Ghobadi, M.E., Mohammadi, GH. and Jalali-Honarmand, S. (2013) "Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress" **Industrial Crops and Products**, 50: 29-38.

Glaser, B., Lehmann, J. and Zech. W. (2002) "Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal-a review" **Biol. Fertil. Soils**, 35:219-230.

Glaser, B., and Woods, W.I. (2004) "**Amazonian dark earths: explorations in space and time**" Springer-Verlag, Berlin. pp. Pages.

Glaser, B., Balashov, E., Haumaier, L., Guggenberger, G., and Zech, W. (2000) "Black carbon in density fractions of anthropogenic soils of the Brazilian Amazon region" **Organic Geochemistry**, 31: 669-678.

Gomez, P., Ortuno, A., and Del, R.J.A. (2004) "Ultrastructural changes and diosgenin content in cell suspensions of *Trigonella foenum-graecum* L. by ethylene treatment" **Plant Growth Regul.**, 44: 93-99.

Graber, E.R., Harel, Y.M. and Kolton, M. (2010) "Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soil less media" **Plant Soil**, 337: 481-496.

Gundale, M.J. and DeLuca, T.H. (2006) "Temperature and substrate influence the chemical properties of charcoal in the Ponderosa pine/Douglas-fir ecosystem" **Forest Ecology and Management**, 231: 86-93.

Haefele S.M., Konboon Y., Wongboon W., Amarante S., Maarifat A.A., Pfeiffer E.M., and Knoblauch C. (2011) "Effects and fate of biochar from rice residues in rice-based systems" **Field Crops Res**., 121: 430-440

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

Hansen, V., Muller-Stover, D., Munkholm, L.J., Peltre, C., Hauggaard-Nielsen, H., Lars Stoumann Jensen, L.S. (2016) "The effect of straw and wood gasification biochar on carbon sequestration, selected soil fertility indicators and functional groups in soil: An incubation study" **Geoderma**, 269: 99-107.

Harris, P. (1999) "On charcoal" **Interdisciplinary Science Reviews**, 24: 301-306.

Hassanzadeh, E., Chaichi, M.R., Mazaheri, D., Rezazadeh, S., and Badi, H.A.N. (2011) "Physical and chemical variabilities among domestic Iranian fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) seeds" **Asian J. Plant. Sci.**, 10(6): 323-330.

Hatfield, J.L., Sauer, T.J., and Prueger, J.H. (2001) "Managing soils to achieve greater water use efficiency: a review" **Agronomy journal**, 280: 271-280.

Hobbs, E.H. and Muendel, H.H. (1983) "Water requirements of irrigated soybean in southern Alberta" **Can. J. Plant. Sci.**, 63: 855-860.

Hogan, M. C. (2011) "**Respiration: Encyclopedia of Earth**" (Eds) McGinley M. and Clevel C.J., National Council for Science and the Environment. Washington, D.C.

Hoogenboom, G., Huck, M.G. and Peterson, C.M. (1987) "Root growth rate of soybean as affected by drought stress" **Agronomy Journal**, 79: 607-614.

Huseynova, I.M. (2012) "Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidantcapacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought" **Biochim. Biophys.Acta: Bioenerg**, 1817: 1516-1523.

Husk, B., and Major, J. (2011) "Biochar commercial agriculture field trial in Quebec, Canada – year three: effects of biochar on forage plant biomass quantity, quality and milk production" http://www.blueleaf.ca/mainen/files/BlueLeafBiocharForageFieldTrialYear3Report.pdf

Iriti, M., and Faoro, F. (2009) "Chemical diversity and defense metabolism: How plants cope with pathogens and ozone pollution" **Int. Mol. Sci.**, 10: 3371-3399.

Jahansuz, M.R., Keshavarz Afshar, R., Heidari Zooleh, H., Hashemi, M. (2014) "Evaluation yield and quality of sorghum and millet as alternative forage crops to corn under normal and deficit irrigation systems" **Jordan J. Agric. Sci.**, 10: 699-714.

Jamali, M.M. (2013) "Investigate the effect of drought stress and different amount of chemical fertilizers on some physiological characteristics of coriander (*Coriandrum sativum* L.)" **International Journal of Farming and Allied Sciences**, 2(20): 872-879.

Jiang, Y. and Huang, B. (2001) "Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation contribution No. 00-227-J from Kansas. Agric. Exp. Stn." **Crop Science**, 41: 436-442.

Jones, A., and Lutes, R., (1993) "**Handbook of joinery**" Sterling Press, New York, USA.

Jones, D.L., Rousk, J., Edwards-Jones, G., DeLuca, T.H. and Murphy, D.V. (2012) "Biochar-mediated changes in soil quality and plant growth in three year field trial" **Soil Biology & Biochemistry**, 45: 113-124.

Kameli, A. and Losel, D.M. (1996) "Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress" **New Phytologist**, 132: 57-62.

Karami, N., Clemente, R., Jimenez, E.M., Lepp, N.W., and Beesley, L. (2011) " Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass" **Journal of Hazardous Materials**, 191: 41-48.

Keshavarz Afshar, R., Hashemi, M., DaCosta, M., Spargo, J. and Sadeghpour, A. (2016) "Biochar application and drought stress effects on physiological characteristics of

Silybum marianum" **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 47(6): 743-752.

Khakimov, B., Tseng, L. H., Godejohann, M., Bak, S. and Engelsen, S.B. (2016) "Screening for triterpenoid saponins in plants using hyphenated analytical platforms" **Molecules**, 21: 1614.

Khalid, K.A. (2006) "Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum sp*.)" **Agrophysics**, 20: 289-296.

Kiani, S.P., Maury, P., Sarrafi, A., and Grieu, P. (2008) "QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under wel-watered and water-stressed conditions" **Plant Sci.**, 175: 565-573.

Kimetu, J., Lehmann, J., Ngoze, S., Mugendi, D., Kinyangi, J., Riha, S.,Verchot, L., Recha, J. and Pell, A. (2008) "Reversibility of soil productivity decline with organic matter of differing quality along a degradation gradient" **Ecosystems**, 11: 726-739.

Koutroubas, S.D., Papakosta, D.K. and Doitsinis, A. (2004) "Cultivar and seasonal effects on the contribution of pre-anthesis assimilates to safflower yield" **Field Crops Research**, 90: 263-274.

Krull, E.S., Baldock, J.A., Skjemstad, J.O. and Smernik, R.J. (2009) "Characteristics of biochar: Organochemical properties" In: Lehmann, J. and Joseph, S. (Eds) "**Biochar for environmental management: Science and Technology**" Earthscan, London, pp. 53-66.

Kuhlbusch, T.A.J. and Crutzen, P.J. (1995) "Toward a global estimate of black carbon in residues of vegetation fires representing a sink of atmospheric CO_2 and a source of O_2" **Global Biogeochemical Cycles**, 9: 491-501.

Kuzentsov, V.I. and Shevykova, N.I. (1999) "Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation" **Russian Journal of Plant Physiology**, 46: 274-287.

Laird, D., Felming, P., Wang, B., and Karlen, D. (2009) "Impact of biochar amendments on soil quality for a typical midwestern agricultural soil" Talk given at the North American Biochar Conference, Boulder, CO USA.

Laird, D.A., Fleming, P., Davis, D.D., Horton, R., Wang, B., and Karlen, D.L. (2010, a) "Impact of biochar amendments on the quality of a typical Midwestern agricultural soil" **Geoderma**, 158(3-4): 443-9.

Laird, D., Fleming, P., Wang, B.Q., Horton, R., and Karlen, D. (2010, b) "Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soil" **Geoderma**, 158:436-442.

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

Lehmann, J. and Rondon, M. (2006) "Bio-char soil management on highly weathered soils in the humid tropics" In: Uphoff N. (ed) "**Biological Approaches to Sustainable Soil Systems**" CRC Press, Boca Raton, FL, pp 517-530.

Lehmann, J., Czimnik, C., Laird, B., and Sohi, S. (2009) "**Biochar for environmental management: science and technology**" London: Earthscan, 183-206.

Lehmann, J., Da Silva, J.P., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., and Glaser, B. (2003) "Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments" **Plant and Soil**, 249(2): 343-357.

Lehmann, J., Gaunt, J. and Rondon, M. (2006) "Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems – a review" **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, 11: 403-427.

Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C. and Crowley, D. (2011) Biochar effects on soil biota- a review" **Soil Biology and Biochemistry**, 43: 1812-1836.

Letchamo, W., Marquard, R., Holz J., and Gosselin A. (1994) "Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections" **AngewandteBotanik**, 68: 83-88.

Levitt, J. (1980) "**Responses of plants to environmental stress: Water, Radiation, Salt and Other Stresses**" Vol. II, Academic Press, New York, pp: 3-211.

Liang, B., Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Grossman, J., O'Neill, B., Skjemstad, J. O., Thies, J., Luizao, F.J., Petersen, J. and Neves, E.G. (2006) "Black carbon increases cation exchange capacity in soils" **Soil Science Societyof America Journal**, 70: 1719-1730.

Linn, D.M. and Doran, J.W. (1984) "Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils" **Soil Sci Socie Ame J**, 48: 1267-1272.

Liu, X., Jian, J., Herbert, S.J., Zhang, Q. and Wang, G. (2005) "Yield components, dry matter, LAI and LAD of soybeans in Northeast China" **Field Crops Research**, 93(1): 85-93.

Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. and Yang, R. (2011) "Effect of droughton pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plantspecies in karst habitats of southwestern China" **Environ. Exp. Bot.**, 71: 174-183.

Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C. and Sohrabi, Y. (2011) "Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars" **Aust. J.Crop Sci.**, 5(10): 1255-1260.

Mahtab, A., Rajapaksha, A.U., Lim, J.E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., Vithanage, M., Lee, S.S., and Ok, Y.S. (2014) "Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water- a review" **Chemosphere**, 99: 19-33.

Major, J. (2009) "Biochar application to a Colombia savanna Oxisol: fate and effect on soil fertility, crop production, nutrient leching and soil hydrology" Department of Crop and Soil Siences, Cornell University, Ithaca NY USA. pp. 841.

Major, J. (2013) "Practical aspects of biochar application to tree crops" **IBI Technical Bulletin**.

Major, J., Rondon, M., Molina, D., Riha, S.J. and Lehmann, J. (2010) "Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol" **Plant and Soil**, 333(1): 117-128.

Major, J., Steiner, C., Downie, A., and Lehmann, J. (2009) "Biochar Effects on Nutrient Leaching" In: Lehmann J. and Joseph S. (Eds.) "**Biochar for Environmental Management: Science and Technology**" Earthscan, London, UK. pp. 271.

Mandal, B.K., Ray, P.K., and Dasgupta S. (1986) "Water use by Wheat, Chickpea and Mustard grown as sole crops and intercrops" **Indian J. Agric. Sci.**, 56: 187-193.

Mannan, M.A., Halder, E., Karim, M.A. and Ahmed, J.U. (2016) "Alleviation of adverse effect of drought stress on soybean (*Glycine max*. L.) by using poultry litter biochar" **Bangladesh Agronomy Journal**, 19(2): 61-69.

Masto, R.E., Kumar, S., Rout, T.K., Sarkar, P., George, J. and Ram, L.C. (2013) "Biochar from water hyacinth (*Eichornia crassipes*) and its impact on soil biological activity" **Catena**, 111: 64-71.

Manivannan, P., Jaleel, C.A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2008) "Osmoregu-lation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching" **C. R. Biol.**, 331: 418-425.

Mazzuca, S., Bitonti, M.B., Innocenti, A.M., Francis, D., (2000) "Inactivation of DNA replication origins by the cell cycle regulator, trigonelline, in root meristems of *Lactuca sativa*. **Planta**, 211: 127-32.

Mengxuan, H. and Pawel, W. (2012) "Effect of Planting Date on Soybean Growth, Yield, and Grain Quality: Review" **Agron. J.**, 104(3): 785-790.

Mendham, N.J. and Salisbury, P.A. (1995) "Physiology. Crop development. Growth and yield" In: Kimbers, D., and Mc Greagor, D.I. (Eds), CAB international, pp 11-67.

Milla, O.V., Rivera, E.B., Huang, W.J., Chien, C.C. and Wang, Y.M. (2013) "Agronomic properties and characterization of rice husk and wood biochars and their effect on the growth of water spinach in a field test" **J. Soil Sci. Plant Nutr.**, 13(2): 251-266.

Minorsky, P.V. (2002) "Trigonelline a diverse regulator in plants" **Plant physiology**, 128(1): 7-8.

Misra, A., and Srivastava, N.K. (2000) "Influence of water stress on Japanese Mint" **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, 7: 51-58.

Mukherjee, A., Lal, R., and Zimmerman, A.R. (2014) "Effects of biochar and other amendments on the physical properties and greenhouse gas emissions of an artificially degraded soil" **Science of the Total Environment**, 487: 26-36.

Mulcahy, D.N., Mulcahy, D.L., and Dietz, D. (2013) "Biochar soil amendment increases tomato seedling resistance to drought in sandy soils. J. Arid Environ., 88: 222-225.

Munns, R. (1988) "Causes of varied differences in salt tolerance" **Plant Physiology**, 960-989.

Namdeo, A.G. (2007) "Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: A review" **Pharmacogn. Rev.**, 1: 69-79.

Neishabori, M.R. and Hatfield, J.L. (1986) "Soil water deficit effects on semi-determinate and indeterminate soybean growth and yield" **Field Crops Research**, 15: 73-84.

Novak, J.M., Lima, I., Xing, B.S., Gaskin, J.W., Steiner, C., Das, K.C., Ahmedna, M., Rehrah, D., Watts, D.W., Busscher, W.J., Schomberg, H. (2009, a) "Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects on aloamy sand" **Ann. Environ. Sci**., 3: 195-206.

Novak, J.M., Busscher, W.J., Laird, D.L., Ahmedna, M., Watts, D.W., and Niandou, M.A.S. (2009, b) "Impact of Biochar Amendment on Fertility of a Southeastern Coastal Plain Soil" **Soil Science,** 174: 105-112.

Ogbonnaya, C.L., Nwalozie, M.C., Roy-Macauley, H. and Annerose, D.J.M. (1998) "Growth and water relations of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) under water deficit on a sandy soil" **Industrial Crops and Products**, 8: 65-76.

Oguntunde, P.G., Abiodun, B.J., Ajayi, A.E., and van de Giesen, N., (2008) " Effects of charcoal production on soil physical properties in Ghana" **J. Plant Nutrition Soil Sci.**, 171: 591-596.

Olmo, M., Alburquerque, J.A., Barron V., del Campillo, M.C., Gallardo, A., Fuentes, M., and Villar, R. (2014) "Wheat growth and yield responses to biochar addition under Mediterranean climate conditions" **Biol. Fert. Soil.**, 50: 1177-1187.

Oncina, R., Del, R.J.A., Gomez, P., and Ortuno, A. (2002) "Effect of ethylene on diosgenin accumulation in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L." **Food Chem.**, 76: 475-479.

Ouyang, L., Wang, F., Tang, J., Yu, L., and Zhang, R. (2013) "Effects of biochar amendment on soil aggregates and hydraulic properties" **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 13: 991-1002.

Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I. (2009) "Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. To drought" **Environmental and Experimental Botany**, 66(3): 487-492.

Pakhale, S.P., Navlakhe, S.M. and Solunke, P.S. (2009) "Influence of in-situ organic recycling of different legumes on soil moisture content, nutrient uptake and yield of rain fed cotton" **Annual Review of Plant Physiology**, 23: 62-65.

Pan, Q., Zhan, J., Liu, H., Zhang, J., Chen, J., Wen, P. and Huang, W. (2006) "Salicylic acid synthesized by benzoic acid 2-hydroxylase participates in the development of thermotolerance in pea plants" **Plant Sci.**, 171: 226-233.

Paneque, M., De la Rosa, J.M., Franco-Navarro, J.D., Colmenero-Flores, J.M., and Knicker, H. (2016) "Effect of biochar amendment on morphology, productivity and water relations of sunflower plants under non-irrigation conditions" **Catena**, 147: 280-287.

Park, J.H., Choppala, G.K., Bolan, N.S., Chung, J.W., Chuasavathi, T. (2011) "Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals" **Plant Soil**, 348: 439-451.

Paz-Ferreiro, J., Fu, S., Mendez, A., and Gasco, G. (2014) "Interactive effects of biochar and the earthworm (*Pontoscolex corethrurus*) on plant productivity and soil enzyme activities" **Journal of Soils and Sediments**, 14: 483-494.

Paz-Ferreiro, J., Gasco, G., Gutierrez, B., and Mendez, A. (2012) "Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme ctivities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil" **Biology and Fertility of Soils**, 48: 511-517.

Peng, X., Ye, L.L., Wang, C.H., Zhou, H., and Sun, B. (2011) "Temperature- and duration-dependent rice straw-derived biochar: Characteristics and its effects on soil properties of an Ultisol in southern China" **Soil and Tillage Research**, 112: 159-166.

Petropoulos, G.A. (2002) "**Fenugreek, The genus Trigonella**" Taylor and Francis, London and New York. p: 255.

Pietikainen, J., Kiikkila, O. and Fritze, H. (2000) "Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus" **Oikos**, 89: 231-242.

Pompelli, M.F., Barata-Luís, R., Vitorino, H.S., Gonc¸alves, E.R., Rolim, E.V., Santos, M.G., Almeida-Cortez, J.S., Ferreira, V.M., Lemos, E.E. and Endres, L., (2010) "Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficitand recovery" **Biomass Bioenergy**, 34: 1207-1215.

Rab, A., Khan, M.R., Haq, S.U., Zahid, S., Asim, M., Afridi, M.Z., Arif, M. and Munsif, F. (2016) "Impact of biochar on mungbean yield and yield components" **Pure Appl. Biol.**, 5(3): 632-640.

Rajkovich, S., Enders, A., and Hanley, K. (2012) "Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil" **Biology and Fertility of Soils**, 48: 271-284.

Ram, B., and Misra, P.N. (2004) "Nutrient accumulation and sodicity reclamation potential of German Chamomile *(Chamomilla recutita)* under varying sodicity and fertility levels" **J. Med. Aromat. Plant Sci**, 26: 12-16.

Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, J. and Perrotta, C. (2006) "Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes" **Plant Cell and Environment**, 29: 2143-2152.

Rebecca, M., and Deepa, S.P. (2012) "Effect of methyl jasmonate and chitosan on growth characteristics of *Ocimum basilicum* L., *Ocimum sanctum* L. and *Ocimum gratissimum* L. cell suspension cultures" **Afr. J. Biotechnol.**, 11: 4759-4766.

Refaat, A.M. and Saleh, M.M. (1997) "The combined effect of irrigation intervals and foliar nutrition on sweet basil plants" **Bulletin of Faculty of Agriculture University of Cairo**, 48: 515-527.

Rodriguez, M. (2010) Master of Science Thesis "Biochar as a strategy for sustainable land management, poverty reduction and climate change mitigation/adaptation" University of Amsterdam, Nederland.

Rondon, M., Lehmann, J., Ramirez, J. and Hurtado, M. (2007) "Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with bio-char additions" **Biology and Fertility of Soils**, 43: 699-708.

Rondon, M., Ramirez, A. and Hurtado, M. (2004) "Charcoal Additions to High Fertility Ditches Enhance Yields and Quality of Cash Crops in Andean Hillsides of Columbia" CIAT Annual Report Cali, Colombia.

Rostamza, M., Chaichi, M.R., Jahansooz, M.R., Rahimian Mashhadi, H., Sharifi, H.R. (2011) "Effects of water stress and nitrogen fertilizer on multi-cut pearl millet forage yield, nitrogen, and water use efficiency" **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, 42: 2427-2440.

Rui, Y. K., Wang, W., Zhang, F. S. and Lu, Y. (2007) "A new kind of fatty acid emerged in transgenic cotton seed" **Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, 84: 39-42.

Rutigliano, F.A., Romano, M., Marzaioli, R., Baglivo, I., Baronti, S., Miglietta, F., and Castaldi, S. (2014) "Effect of biochar addition on soil microbial community in a wheat crop" **European Journal of Soil Biology**, 60: 9-15.

Sadeghzadeh-Ahari, D., Hassandokht, M.R., Kashi, A.K., Amri, A. and Alizadeh, K.H. (2010) "Genetic variability of some agronomic traits in the Iranian fenugreek landraces under drought stress and non-stress conditions" **African Journal of Plant Science**, 4: 12-20.

Safari, Z., Hasandokht, M.R., Hasanloo, T., Moradi, F. (2015) "Morphological diversity in Iranian fenugreek landraces" 4th National Congress on Medicinal Plants. Tehran- Iran.

Salehi Surmaghi, M.H. (2008) "**Medicinal Plants and Herbal Therapy**" Volume 1, pp: 253-4.

Sampathkumar, T., Pandian, B.J., Rangaswamy, M.V., Manickasundaram, P., and Jeyakumar, P. (2013) "Influence of deficit irrigation on growth, yield and yield parameters of cotton-maize cropping sequence" **Agric. Water Manage**. 130: 90-102.

Saxena, J., Rana, G., and Pandey, M. (2013) "Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans" **Scientia Horticulturae**, 162: 351-356.

Siddiqui, S., Khan, M.A., Kim, B.G., Huang, J.S. and Kwon, T.R. (2008) "Physiological responses of *Brassica napus* genotypes to combined drought and salt stress" **Plant Stress**, 2: 78-83.

Seetseng, K.A. (2008) Master of Science thesis "Effect of water application and plant density on canola (*Brassica napus* L.) in the freestate" University of the Free State Bloemfontein.

Selmar, D., Kleinwachter, M. (2013) "Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants" **Indus. CropsProd.** 42: 558-566.

Shailajan, S., Menon, S., Singh, A., Mhatre, M., and Sayed, N.A. (2011) "Validated RP-HPLC method for quantitation of trigonelline from herbal formulations containing *Trigonella foenum-graecum* (L.) seeds" **Pharm. Met.**, 2: 157-60.

Sheligl, H.Q. (1986) "Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht" **Planta Journal**, 47-51.

Shams, M., Haghighi, B., Abbasi Niasar, M. and Zandi Esfahan, E. (2014) "Effect of copper and nitrogen nutrients on diosgenin production in fenugreek" **Archives of Agronomy and Soil Science**, 60(8): 1115-1124.

Sharifi Ashoorabadi, E., Matin, M., Lebaschi, H., Abbaszadeh, B., and Naderi, B. (2005) "Effects of water stress on quantity yield in *Achillea millefolium*" The First International Conference on the Theory and Practices in Biological Water Saving, p. 211.

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M. (2012) "Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions" **J. Bot.**, pp. 1-26.

Shinogi, Y. and Kanri, Y. (2003) "Pyrolysis of plant, animal and human waste: physical and chemical characterization of the pyrolytic products" **Bioresource Technology**, 90: 241-247.

Silber, A., Levkovitch, I., Graber, E.R. (2010) "pH-dependent mineral release and surface properties of cornstrawdbiochar: agronomic implications" **Environ Sci Technol**, 44: 9318-9323.

Sinclair, T.R., Gilbert, R.A., Perdomo, R.E., Shine Jr., J.M., Powell, G., and Montes, G. (2004) "Sugarcane leaf area development under field conditions in Florida, USA" **Field Crops Res.**, 88: 171-178.

Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savoure, A. and Abdelly, C. (2007) "Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*" **Environmental and Experimental Botany**, 61: 10-17.

Sohi, S.P., Krull, E. Lopez-Capel, E. and Bol, R. (2010) "A review of biochar and its use and function in soil" **Advances in Agronomy**, 105: 47-82.

Solaiman, M.Z., Blackwell, P., Abbott, L.K. & Storer, P. (2010) "Direct and residual effect of biochar application on mycorrhizal root colonisation, growth and nutrition of wheat" **Soil Research**, 48(7): 546-554.

Solinas, V. and Deiana, S. (1996) "Effect of water and nutritional conditions on the *Rosmarinus officinalis* L. phenolic fraction and essential oil yields" **Italian Epos.** 19: 189-198.

Spokas, K.A., Baker, J.M. and Reicosky, D.C. (2010) "Ethylene: potential key for biochar amendment impacts" **Plant & Soil**, 333: 443-452.

Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R., Kuikkarni, R., Su Shil Hasan, S., Samresh, D., Kukre, J., Ashok, A., Sharmr Singh, K., Srikantand, S. and Rakesh, T. (2001) "Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle" J**ournal of Medicinal and Aromatic Plants**, 22: 356-358.

Steinbeiss, S., Gleixner. G., and Antonietti, M. (2009) "Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity" **Soil Biology and Biochemistry**, 41: 1301-1310.

Steiner, C., Glaser, B., Teixeira, W.G., Lehmann, J., Blum, W.E.H., and Zech, W. (2008) "Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered central Amazonian Ferralsol amended with compost and charcoal" **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 171: 893.

Steiner, C., Teixeira, W.G., Lehmann, J., Nehls, T., Macedo, J.L.V., Blum, W.E.H. and Zech, W. (2007) "Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil" **Plant and Soil**, 291: 275-290.

Sun, X.P., Yan, H.L., Kang, X.Y., Ma, F.W. (2013) "Growth, gas exchange, and water-use efficiency response of two young apple cultivars to drought stress in two scion-one rootstock grafting system" **Photosynthetica**, 51(3): 404-410.

Tagoe, S., Horiuchi, T., and Matsui, T. (2008) "Effects of carbonized and dried chicken manures on the growth, yield, and N content of soybean" **Plant and Soil**, 306: 211-220.

Taiz, L. and Zeiger, E. (1991) "**Plant physiology**" The Benjamin – Cumings publishing company Inc. California: 565 pp.

Tan Y., Liang Z., Shao H., and Du F. (2006) "Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix astragaliat* seeding stage" **Colloids Surf. B: Biointerfaces,** 49: 59-64.

Tandaie, M.D., Lad, B.L. Ubale, S., Dhadage, S.M. and Wandhekar, N.V. (2009) "Effect of morphological characters on seed yield of soybean" **Annual Review of Plant Physiology**, 23: 34-36.

Taruming Keng, R.C., and Coto, Z. (2003) "Effects of drought stress on growth and yield of Soybean" **Kisman, Science Philosopy**, P: 702.

Taylor, W.G., Elder, J.L., Chang, P.R. and Richards, K.W. (2000) "Micro determination of diosgenin fromfenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds" **J. Agric. Food Chem.**, 48: 5206-5210.

Thies, J.E. and Rillig M.C. (2009) "Characteristics of biochar: biological properties" In: Lehmann, J. and Joseph, S. (Eds). "**Biochar for environmental management: Science and Technology**" Earthscan, London. pp. 85-106.

Tood Revell, K. (2011) Master of Science Thesis "The effect of fast pyrolysis biochar made from poultry litter on soil properties and plant growth" Virginia Polytechnic Institute and State University, USA.

Tyihak, E., Sarhan, A.R.T., Cong, N.T., Barna, B. and Kiraly, Z. (1988) "The level of trigonelline and other quaternary ammonium compounds in tomato leaves in ratio to the changing nitrogen supply" **Plant and Soil**, 109: 285-287.

Van Zwieten, L., Kimber, S., Morris, S., Chan, Y.K., Downie, A., Rust, J., Josepp, S., and Cowie, A. (2010) "Effects of biochar from slow pyrolysis of paper mill waste on agronomic performance and soil fertility" **Plant and Soil**, 37: 235-246.

Van Zwieten, L., Kimber, S., Sinclair, K., Chan, K.Y. and Downie, A. (2008) "Biochar: Potential for climate change mitigation, improved yield and soil health" In: Proceedings of the New South Wales Grassland Conference, 2008, NSW, Australia.

Verheijen, F., Jeffery, S., Bastos, A.C., Van Der Velde, M. and Diafas, I. (2010) "Biochar Application to Soils. A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions" **JRC Scientific and Technical Report**.

Wang, L., Butterly, C.R., Yang, X.L., Wang, Y., Herath, H.M.S.K. and Jiang, X. (2012) "Use of crop residues with alkaline slag to ameliorate soil acidity in an Ultisol" **Soil Use and Management**, 28(2): 148-156.

Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K.Y., Deng, X.P. and Kwak, S.S. (2009) "Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses" **Plant Physiology Biochemistry**, 47: 570-577.

Wanga, Y., Pana, F., Wanga, G., Zhanga, G., Wangc, Y., Chena, Y., Maoa, Z. (2014) "Effects of biochar on photosynthesis and antioxidative system ofMalus hupehensis Rehd. seedlings under replant conditions" **Scientia Horticulturae**, 175:9-15.

Wardle, D.A., Zackrisson, O., Nilsson, M.C. (1998) "The charcoal effect in boreal forests: mechanisms and ecological consequences" **Oecologia**, 115: 419-426.

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

Warnock, D.D. Mummeya, D.L. McBride, B. Major, J. Lehmann, J. and Rillig, M.C. (2010) "Influences of non-herbaceous biochar on arbuscular mycorrhizal fungal abundances in roots and soils: results from growth chamber and field experiments" **Applied Soil Ecology**, 46: 450-456.

Watanabe, I. and Nagasawa, T. (1990) "Appearance and chemical composition of soybean [*Glycine max*] seeds in germplasm collection of Japan" **Japan. J. Crop Sci.**, 59: 649-660.

Williams, M.A. and Rice, C.W. (2007) "Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural, and functional attributes of a soil microbial community" **Appl Soil Ecol**, 35: 535-545.

Winsley, P. (2007) "Biochar and bioenergy production for climate change mitigation" **New Zealand Science Review**, 64: 5-10.

Wu, F. Jia, Z., Wang, S.S., Chang, X. and Startse, A. (2013) "Contrasting effects of wheat straw and its biochar on greenhouse gas emissions and enzyme activities in a Chernozemic soil" **Biology and Fertility of Soils**, 49: 555-565.

Xiao, X., Xu, X., Yang, F. (2008) "Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations" **Silva Fennica**., 42: 705-719.

Yamato, M., Okimori, Y., Wibowo, I.F., Anshori, S. and Ogawa, M. (2006) "Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium*on the yield of maize, cowpea, peanut and soil chemical properties in south Sumatra, Indonesia" **Soil Science and Plant Nutrition**, 52: 489-495.

Yang, C., Xu, H.H., Wang, L., Liu, J., Shi, D.C., and Wang, D. (2009) "Comparative effects of salt-stress and alkaline-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants" **Photosynthetica**, 47(1): 79-86.

Yang, H. and Sheng, K. (2012) "Characterization of biochar properties affected by different pyrolysis temperatures using visible near infrared spectroscopy" International Scholarly Research Network Spectroscopy.

Yao, F.X., Arbestain, M.C., Virgel, S., Blanco, F., Arostegui, J., Macia-Agullo, J.A. and Macias, F. (2009) "Simulated geochemical weathering of a mineral ash-rich biocharin a modified Soxhlet reactor" **Chemosphere**, 80: 724-732.

Younis, U., Malik, S.A., Qayyum, M.F., Raza Shah, M.H., Shahzad, M.H.A.N and Mahmood, S. (2015) "Biochar affects growth and biochemical activities of fenugreek (*Trigonella corniculata*) in cadmium polluted soil" **Journal of Applied Botany and Food Quality**, 88: 29-33.

Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. and Xia, X.J. (2010, a) "Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*" **Plant Science**, 179(3): 202-208.

Zhang, A., Cui, L., Pan, G., Li, L., Hussain, Q., Zhang, X., Zheng, J., and Crowley D. (2010, b) "Effect of biochar amendment on yield and methane and nitrous oxide emissions from a rice paddy from Tai Lake plain, China" **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 139:469-475.

Zhang, A., Liu, Y., Pan, G., Hussain, Q., Li, L., Zheng, J., and Zhang, X. (2012) "Effect of biochar amendment on maize yield and greenhouse gas emissions from a soil from central China plain" **Plant and Soil**, 351: 263-275.

Ecophysiological Evaluation of Fenugreek Ecotypes Response to Late Season Water Stress under Biochar Application and Non-application Conditions

Abstract

To assess the ecophysiological response of fenugreek ecotypes to late season water stress under biochar and non-biochar application, a greenhouse and a field experiment were conducted at the Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran in 2015. Six branched fenugreek ecotypes including Dezful, Shushtar, Ardestan, Rehman, Yazd, and Khomeyni Shahr were treated by biochar application and non-application under 2 different irrigation regimes of normal irrigation and water stress. A factorial experiment in a completely randomized design with 4 replications and a split plot factorial experiment in a randomized complete block design with 3 replications (Irrigation as the main plot and biochar and ecotype combination as the subplot) were used in greenhouse and field, respectively. Biochar was derived from rice husk at 500°C in an oxygen depleted environment and used mixed with the soil in pots in the greenhouse or top layer of the soil in the field at a ratio of 8:92 v/v. Water stress was applied on 50% flowering stage based on %30-50 of soil field capacity in the greenhouse or increasing irrigation intervals from 4 to 8 days in the field. Yield, yield components and some compounds in seeds were measured in both experiments. According to the results, water stress significantly had a negative effect on growth and yield of fenugreek in both experiments. While using biochar moderated the effect of water deficit and decreased the effect of water stress on fenugreek growth and yield. It was shown biochar application increased seed yield under normal irrigation and water stress condition by 15.41 and 8.35%, respectively, in the greenhouse and by 24.33 and 26.66%, respectively, in the field. Among assessed ecotypes, Rehnan was superior to the other ecotypes from seed yield point of view in both experiments. Seed trigonelline content responded differently to biochar application in different irrigation regimes in both experiments. Overall, biochar application decreases secondary metabolites accumulation in plants which are usually accumulate during stress periods by improving soil water content and decreasing water stress effect on plant. On the other hand biochar application increase trigonelline yield by increasing yield under water stress condition.

Key words: Biochar, Deficit irrigation, Diosgenin, Ecotype, Secondary metabolites, Trigonelline, Yield and yield components.

Shahrood University of Technology

Faculty of Agricultural Engineering

PhD Thesis in Agronomy

Ecophysiological Evaluation of Fenugreek Ecotypes Response to Late Season Water Stress under Biochar Application and Non-application Conditions

By: Zahra Bitarafan

Supervisors:

Dr. HamidReza Asghari

Dr. Tahereh Hasanloo

Co-supervisors:

Dr. Ahmad Gholami

Dr. Foad Moradi

June 2018