

نشریه پژوهشی:

اثر سطوح مختلف بیوچار، هیدروچار و اسید سالیسیلیک بر رشد گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis L.*)

سارا خالقی گزیک^۱، وحید رضا صفاری^{۲*} و شهرزاد دانشور^۳

۱، ۲ و ۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۹)

چکیده

به تازگی استفاده از بیوچار و هیدروچار به عنوان بهبود حاصلخیزی خاک، غیرمتحرک کردن آلودگی‌ها و همچنین یک روش مناسب برای ذخیره و ترسیب کربن مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش تأثیر منابع اصلاح کننده خاک با پنج سطح (بیوچار ۱ و ۲ درصد وزنی، هیدروچار ۱ و ۲ درصد وزنی و بدون ماده اصلاحی) و اسید سالیسیلیک با سه سطح (صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر) بر گیاه همیشه بهار بررسی گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد بیوچار و هیدروچار ۲ درصد وزنی سبب افزایش ۳۹ و ۳۶ درصدی طول عمر گل و کاهش ۲۲ و ۲۱ درصدی نشت یونی و ۳۶ و ۲۹ درصدی مالون دی‌آلدهید نسبت به تیمار شاهد گردید. غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک نیز سبب افزایش ۲۱ درصدی طول عمر گل و کاهش ۱۹ درصدی میزان نشت یونی و مالون دی‌آلدهید نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین بیشترین درصد وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، کلروفیل کل، فعالیت آنزیم پراکسیداز و آنزیم آسکوربیات پراکسیداز با کاربرد بیوچار یا هیدروچار ۲ درصد وزنی و اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر حاصل گردید. این نتایج حاکی از نقش مثبت مواد اصلاح کننده خاک بود.

واژه‌های کلیدی: کلروفیل کل، مالون دی‌آلدهید، نشت یونی، وزن خشک ریشه.

Effect of different levels of biochar, hydrochar and salicylic acid on the growth of *Calendula officinalis L.*

Sara Khaleghi Gazik¹, Vahid Reza Saffari^{2*} and Shahrzad Daneshvar³

1, 2, 3. M.Sc. Graduated, Associate Professor and Ph. D. Student, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: Aug. 03, 2021 - Accepted: Nov. 30, 2021)

ABSTRACT

Recently use of biochar and hydrochar have been considered as a suitable method for improving soil fertility, fixing soil pollutant and store carbon inside the soil. In this study the effect of different soil improvers at 5 levels including biochar at 1 and 2% w/w, hydrochar at 1 and 2% w/w and no soil improver and also salicylic acid at 3 levels (0, 200 and 400 mg^{-L}) were applied on marigold plants. This experiment was a factorial based on completely randomized design. Results showed that biochar and hydrochar at 2% w/w level increased flower life at 39 and 36%, respectively, but decreased ion leakage 22 and 21%, and also malondialdehyde at 36 and 29%, respectively compared to control treatment. Salicylic acid at 200 mg^{-L} concentration increased flower life at 21% and decreased ion leakage and malondialdehyde by 19% compared to control treatment. Highest ratios of shoot dry weight, root dry weight, total chlorophyll content, peroxidase and ascorbate peroxidase enzyme activity were obtained by application of biochar or hydrochar at 2% w/w and salicylic acid at 200 mg^{-L}. These results indicated the positive role of soil improvers.

Keywords: Ion leakage, malondialdehyde, root dry weight, total chlorophyll.

* Corresponding author E-mail: safariv@uk.ac.ir

کاتیونی خاک (Masto *et al.*, 2013) اشاره کرد. کاربرد هیدروچار در گیاه چمن لوکیوم زیست توده گیاه را افزایش داد (Panek et al., 2019). اسید سالیسیلیک یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، از ترکیبات فنلی در گیاهان است که به عنوان ماده شبه هورمونی نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو دارد (Zhang *et al.*, 2006). اسید سالیسیلیک یکی از مولکول‌های سیگنال دهنده مهم است که باعث عکس‌العمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Davis, 2004). کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک روی فرآیندهای گوناگونی از جمله جوانه زنی، بسته تر شدن روزنه‌ها، جذب و انتقال یون‌ها، حفظ یکپارچگی غشاء، فتوسنتز و سرعت رشد گیاه اثرگذار است (Aftab *et al.*, 2011). کاربرد اسید سالیسیلیک در گل شاخه بریدنی رز منجر به افزایش طول ساقه گل‌دهنده، طول و قطر غنچه گل، سطح برگ و وزن تر گیاه شد (Alaey *et al.*, 2011). گزارش شده است که کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه خیار سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ شد (Yildirim *et al.*, 2008). کاربرد برگی تیمار اسید سالیسیلیک در گیاه چمن لوکیوم رشد گیاه را بهبود بخشید (Hosseini *et al.*, 2016).

همیشه بهار گیاهی بوته‌ای از خانواده کاسنی (*Calendula officinalis* L.), با نام علمی Asteraceae است. خاستگاه اصلی این گیاه در حوزه دریای مدیترانه، خاورمیانه و اروپای مرکزی است (Borghei et al., 2011). همیشه بهار به طور گسترده در فضای سبز ایران کشت و به علت رنگ‌های بسیار متنوع در حاشیه کاری‌ها و جعبه‌های گل کاربرد زیادی دارد (Ghasemi ghahsareh *et al.*, 2011). خاک‌های نواحی جنوب و جنوب شرق کشور ایران عمدهاً شور بوده و فاقد مواد اصلاحی هستند، هدف از این پژوهش استفاده از دو ماده آلی اصلاحی بیوچار و هیدروچار همراه با اسید سالیسیلیک جهت بهبود عملکرد و صفات رشدی گیاه همیشه بهار بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت گلدانی در پاییز سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید

مقدمه

امروزه به دلیل افزایش اهمیت مسائل زیست محیطی، توجه بیشتری به کودهای بیولوژیک یا زیستی برای جایگزینی کودهای شیمیایی شده است (Kader *et al.*, 2002). افزودن مواد آلی به خاک، به دلیل پاسخگویی به یکی از بزرگترین نیازهای گیاه، از مزایای بارز این قبیل کودهاست. یکی از راهکارهای مفید در جهت کاهش آلودگی محیط زیست و بهبود خاک، استفاده از مواد آلی نظیر بقایای گیاهی است (Sohi *et al.*, 2009). یکی از موارد مهم استفاده از بقایای گیاهی، تبدیل آن‌ها به بیوچار و هیدروچار است (Sun *et al.*, 2014). بیوچار ماده‌ای با تخلخل بالا است که گروههای عاملی فراوانی داشته و طبق نتایج در جذب سطحی فلزات سنگین به Sohi *et al.* (2009)، علاوه بر این، باعث افزایش فراهمی عناصر غذایی ماکرو و نیز ظرفیت بالای نگهدارش آب و به دنبال آن بهبود رشد گیاه می‌گردد (Glaser *et al.*, 2002). گزارش شده است که کاربرد بیوچار تولید شده از چوب در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد موجب بهبود رشد گیاه در خاک‌های آلوده گردید (Namgay *et al.*, 2010). در پژوهشی نشان داده شد که افزودن بیوچار به بستر کشت گیاه تاج خروس سبب افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردید (Jia *et al.*, 2019). کاربرد بیوچار در گیاه سیکلامن تأثیر مثبتی بر رشد این گیاه داشت (Fathi *et al.*, 2021).

هیدروچار، ماده جامد کربنی است که از کربونیزه شدن گرم‌آبی (Hydrothermal carbonization) (Novak *et al.*, 2014) زیست توده تولید می‌شود. برای تولید هیدروچار نسبت به بیوچار انرژی کمتری لازم بوده و با مصرف مقدار مشخصی از زیست توده، درصد جرمی هیدروچار تولید شده بیشتر از بیوچار می‌باشد (Hu *et al.*, 2010). علاوه بر آن بسته به ماهیت ماده آلی، بخش مایع هیدروچار ممکن است سرشار از عناصر غذایی مفید برای گیاهان باشد (Petrović *et al.*, 2016). از مزایای هیدروچار می‌توان به کاهش گازهای گلخانه‌ای از قبیل CO_2 و N_2O (Laird *et al.*, 2010)، ترسیب کرین خاک (Lehmann & Joseph, 2009) افزایش حاصلخیزی خاک، افزایش تخلخل خاک و افزایش ظرفیت تبادل

در مرحله‌ی ۵ برگی به داخل گلدان‌های اصلی (دارای قطر دهانه و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر) انتقال داده شدند به گونه‌ای که در هر گلدان یک نشاء قرار گرفت. یک ماه پس از انتقال نشاء عمل محلول پاشی اسید سالیسیلیک در طی ۳ مرحله و با فاصله زمانی ۱۴ روز در اوایل صبح به صورت اسپری برگی انجام شد. لازم به ذکر است که اولین محلول پاشی اسید سالیسیلیک در مرحله ۸ برگی گیاه صورت گرفت. در این حین یک سری شاخص‌های مورفولوژیک اندازه‌گیری شد تا اینکه ظهور گل‌های جدید در گیاهان به شدت رو به کاهش گذاشت، که این مرحله عموماً به عنوان انتهای دوره رشد این گیاه شناخته می‌شود.

اندازه‌گیری برخی صفات مورفولوژیک

قطر و عمر گل و وزن خشک ریشه و ساقه در طول دوره آزمایش قطر و طول عمر متوسط گل‌ها مورد اندازه‌گیری و یادداشت برداری قرار گرفت و در انتهای آزمایش وزن خشک ریشه و ساقه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری طول عمر گل، در اولین روز بازشدن هر کدام از گل‌های بوته‌های تحت تیمار، آن گل توسط یک نخ رنگی علامت گذاری شد و پس از اتمام زمان گلدهی، تاریخ پژمردگی آن گل یادداشت گردید و متوسط تفاضل این دو زمان در گل‌های یک بوته مشخص کننده طول عمر گل بود.

اندازه‌گیری برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نشت یونی

برای سنجش میزان آسیب غشاء، میزان نشت یونی به روش Kumar (2011) اندازه‌گیری گردید. بدین منظور از هر بوته ۵ قطعه برگ مساوی به وسیله سوراخ کن کاغذ به قطر دیسک یک سانتی‌متر مربع تهیه و پس از شست و شو (برای شست و شوی یون‌های احتمالی از سطح برگ) درون لوله‌های آزمایش درب دار قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطراً به آن اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC₁) با استفاده از EC متر مدل Metrhrom (ساخت کشور سوئیس) قرائت شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در فریزر قرار داده و بعد از آن، نمونه‌ها در دمای

باهنر کرمان با موقعیت جغرافیایی ۳۰ درجه شمالی و طول ۵۷ درجه شرقی با ارتفاع ۱۷۵۴ متر از سطح دریا و محدوده دمایی بین حداقل ۱۸ و حداکثر ۳۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. رطوبت نسبی گلخانه به طور میانگین در طول آزمایش ۳۵ تا ۴۵ درصد بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل مواد اصلاح کننده خاک در پنج سطح، شامل بیوچار ۱ و ۲ درصد وزنی، هیدروچار ۱ و ۲ درصد وزنی و شاهد (عدم مصرف بیوچار و هیدروچار) و فاکتور دوم شامل سه سطح اسید سالیسیلیک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. خاک به کار برده شده در هر گلدان به نسبت ۰، ۱ و ۲ درصد وزنی با بیوچار یا هیدروچار به دست آمده از پوست تر پسته مخلوط گردید. بیوچار از پوست تر پسته تهیه و برای این منظور پوست تر پسته پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد و روش پیرویز آهسته (دما ۳۰۰ درجه سلسیوس) برای تهیه بیوچار انتخاب گردید. جهت تهیه هیدروچار، پوست تر پسته به روش کربنیزاسیون هیدروترمال در دما ۲۲۰ درجه سلسیوس و فشار ۲۰ بار به مدت ۱۲ ساعت در اتوکلاو قرار داده و پسماند جامد حاصل از این واکنش در دما ۶۰ درجه سلسیوس در آون خشک کرده و سپس به صورت پودر درآورده شد. قبل از آزمایش پودر هیدروچار به مقدار ۳۰ گرم در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطراً شسته و به مدت ۱۰ دقیقه در شیکر تکان خورده و سپس نتیجه این سوسپانسیون جمع آوری شده و پس از عبور از صافی ریز، مواد جامد باقی مانده جمع آوری و پس از خشک شدن در آزمایش استفاده گردید. بر اساس تحقیقات انجام شده در خصوص تأثیر بیوچار و هیدروچار بر رشد گیاهان، تأثیرات متقابلی گزارش شده است. طبق این گزارشات، از آنجا که شیرابه ماده گیاهی برای تولید بیوچار و هیدروچار استخراج می‌شود، بسیاری از عوامل بازدارنده رشد از آن خارج می‌گردد. قبل از انتقال نشاء‌ها هدایت الکتریکی خاک اندازه‌گیری شد که میزان آن ۴/۶ دسی زیمنس بر متر بود که به عنوان خاکی با شوری متوسط شناخته می‌شود. سپس نشاء‌های همیشه بهار

دلیل اکسیداسیون گایاکول در بازه‌های ۳۰ ثانیه‌ای به مدت ۳ دقیقه در طول موج ۴۲۶ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS مدل Cary50، اندازه‌گیری شد (Putter, 1974). فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره (به دست آمده از روش برادفورد) محاسبه گردید.

آنژیم آسکوربات پراکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش Nakano & Asada (1981) استفاده گردید. در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲۶۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار ($pH=7/5$)، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر ۱۰ EDTA میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر آب اکسیژن ۱۵ میلی‌مولار بود. فعالیت آسکوربات پراکسیداز بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر در بازه‌های یک دقیقه‌ای به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیک

نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در این پژوهش نشان داد که اثرات اصلی منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر تمامی صفات مورد مطالعه در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و اثرات متقابل آن‌ها نیز بر تمامی صفات به غیر از طول عمر گل در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

وزن خشک اندام هوایی

نتایج نشان داد که با افزایش کاربرد غلظت‌های منابع اصلاح کننده خاک (بیوچار و هیدروچار) و هورمون اسید سالیسیلیک میزان وزن خشک اندام هوایی روند افزایشی داشت.

معمولی آزمایشگاه قرار داده شد. میزان هدایت الکتریکی (EC_2) مجدداً اندازه‌گیری و درصد نشت یونی از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\% EL = (EC_1 / EC_2) \times 100$$

کلروفیل کل

۰/۱ گرم وزن تر نمونه در ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۲۷۰۰ قرار داده شد سپس ۳ میلی لیتر عصاره رویی را برداشته و جذب آن در طول موج ۶۴۶/۲ و ۶۶۳/۲ نانومتر به کمک اسپکتروفوتومتر خوانده شد. کلروفیل کل با استفاده از فرمول محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Lichtenthaler, 1987).

مالون دی‌آلدهید

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدهید روش Heath & Packer (1968) به کار گرفته شد و جذب نور در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده و از ضریب خاموشی $155\mu M^{-1} cm^{-1}$ و فرمول زیر استفاده گردید.

$$A = \epsilon BC$$

که در این فرمول، A جذب خوانده شده، (ϵ) ضریب خاموشی، B عرض کووت و C غلظت کمپلکس بر حسب میلی‌مولار است.

پروتئین

برای سنجش پروتئین از روش Bradford (1976) استفاده شد. شدت جذب نمونه‌ها با اسپکتروفوتومتر UV-VIS مدل Cary50 (ساخت کشور آلمان) در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

آنژیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲۸۶ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار ($pH=7$)، ۲۰ میکرولیتر آب اکسیژن ۰/۷۵ میلی‌مولار (درصد)، ۲۰ میکرولیتر گایاکول خالص و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر برخی صفات مورفولوژیک همیشه بهار.
Table 1. Results of variance analysis effect of soil improver sources and salicylic acid on some morphological parameters of marigold.

Source of variation	df	Mean of squares		
		Shoot dry weight	Root dry weight	Flower diameter
Salicylic acid (SA)	2	33.70**	10.37**	500.48**
Soil improver sources (SO)	4	25.21**	12.70**	517.89**
SA× SO	8	1.28**	0.53**	24.13**
Error	30	0.49	0.14	9.65
C. V. (%)	-	14.24	18.12	7.95
				12.20

*, **, ns: به ترتیب تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی دار.

* , **, ns: Significantly difference at the 5 and 1 of probability level, and non-significantly difference, respectively.

(شاهد) اسید سالیسیلیک و بدون کاربرد منابع اصلاح کننده خاک به میزان ۰/۳۶ گرم مشاهده شد (شکل ۲). یافته های این پژوهش با یافته هایی در مورد تأثیر بیوچار بر رشد گیاه زینتی کالاتیا با افزایش وزن تر و Zhang *et al.*, 2014. در چمن لولیوم نشان داده شد که زیست توده گیاه در گل丹 های تیمار شده با هیدروچار لجن فاضلاب، افزایش یافت (Panque *et al.*, 2019). گزارش کرداند که محلول پاشی اسید سالیسیلیک در گل شاخه بریدنی رز منجر به بهبود صفات رویشی شد (Alaei *et al.*, 2011). تأثیر اسید سالیسیلیک در تنظیم رشد سلول با اثرات ویژه روی بزرگ شدن سلول، تقسیم سلولی و حفاظت ساختار سلول می باشد (Vanaker *et al.*, 2001).

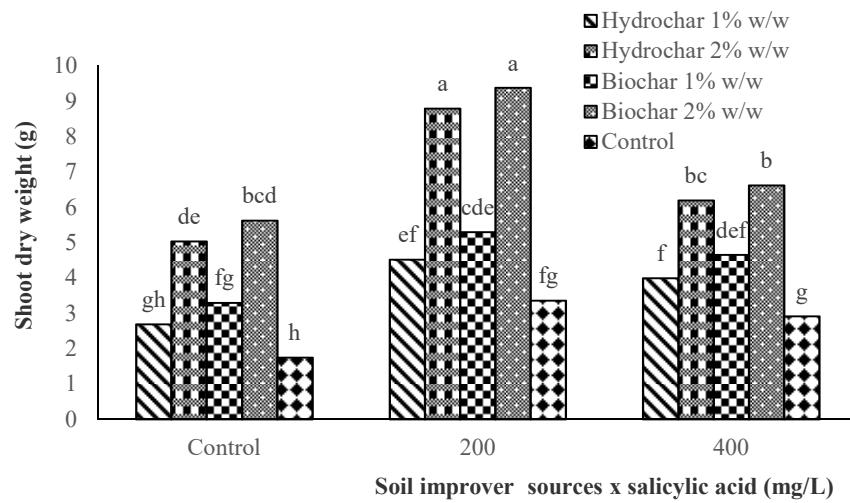
قطر گل

با بررسی داده ها مشخص گردید که کاربرد بیوچار و هیدروچار و همچنین محلول پاشی گیاهان با هورمون اسید سالیسیلیک سبب افزایش قطر گل نسبت به تیمار شاهد شدند. به گونه ای که بیشترین قطر گل در تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک با کاربرد بیوچار یا هیدروچار ۲ درصد وزنی به ترتیب به میزان ۵۷/۹۲ و ۴۹/۵۴ میلی متر و کمترین میزان قطر گل در تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک و منابع اصلاح کننده به میزان ۲۶/۶۳ میلی متر مشاهده شد (شکل ۳). با افزایش میزان بیوچار به بستر کشت گیاه تاج خروس رشد و نمو گیاه بیشتر شد (Habibi et al., 2017). همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش قطر گل در بنفسه آفریقایی شد (Jabbarzadeh *et al.*, 2009).

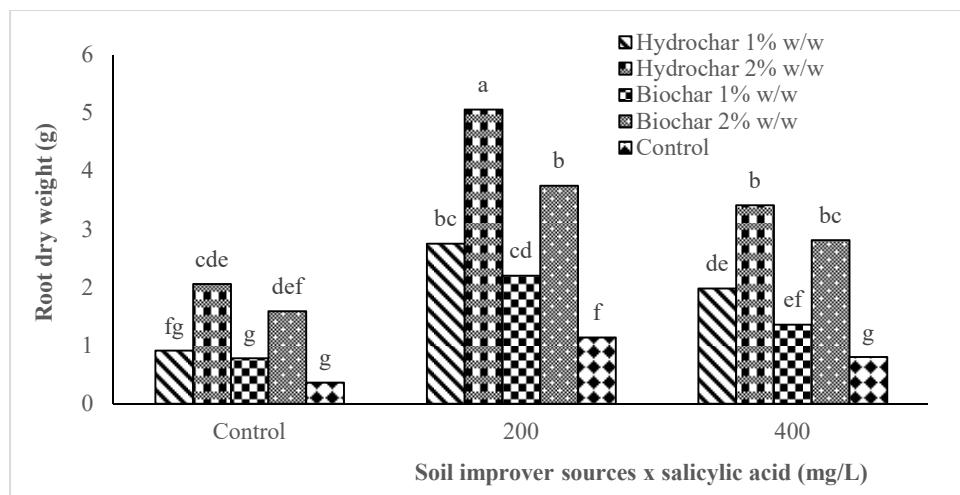
به گونه ای که بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک با کاربرد بیوچار یا هیدروچار ۲ درصد وزنی به ترتیب به میزان ۹/۳۸ و ۸/۷۹ گرم مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد (سطح صفر) اسید سالیسیلیک و عدم کاربرد منابع اصلاح کننده خاک (۱/۷۵ گرم) افزایش بیش از ۵ برابری این صفت را به نمایش گذاشتند (شکل ۱). بهبود صفات رویشی با کاربرد بیوچار و هیدروچار را می توان به دسترسی بهتر گیاه به مواد مغذی به دلیل ظرفیت تبادل کاتیونی بالای بیوچار و هیدروچار و همچنین پتانسیل بالای آنها در نگهداری مواد مغذی و آب نسبت داد. در همین راستا نشان داده شد که کاربرد بیوچار در بستر کشت گل جعفری آفریقایی، وزن خشک گیاه را به طور معنی داری افزایش داد که با نتایج این پژوهش همسو بود (Vaughn *et al.*, 2013). گزارش شده است که در گیاه بنت قنسول با افزودن بیوچار به محیط کشت گیاه، وزن خشک گیاه افزایش یافت (Guo *et al.*, 2018). کاربرد اسید سالیسیلیک نیز سبب بهبود صفات رویشی گیاه همیشه بهار شد که این نتایج با داده های Bayat *et al.* (2012) در گیاه همیشه بهار مطابقت داشت.

وزن خشک ریشه

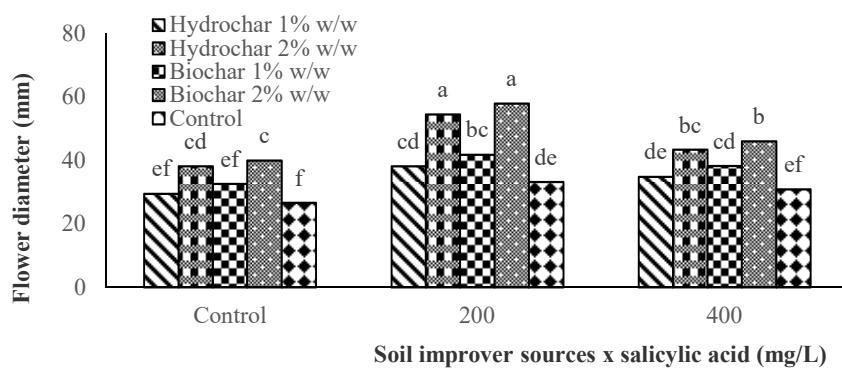
در بررسی این صفت مشاهده شد که با افزایش غلظت منابع اصلاح کننده خاک و هورمون اسید سالیسیلیک عموماً وزن خشک ریشه افزایش یافت. به طوریکه بیشترین وزن خشک ریشه در اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر با کاربرد هیدروچار ۲ درصد وزنی به میزان ۵۰/۶ گرم و کمترین میزان آن در سطح صفر



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر وزن خشک اندام هوایی همیشه بهار.
Figure 1. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on shoot dry weight of marigold.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر وزن خشک ریشه همیشه بهار.
Figure 2. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on root dry weight of marigold.



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر قطر گل همیشه بهار.
Figure 3. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on flower diameter of marigold.

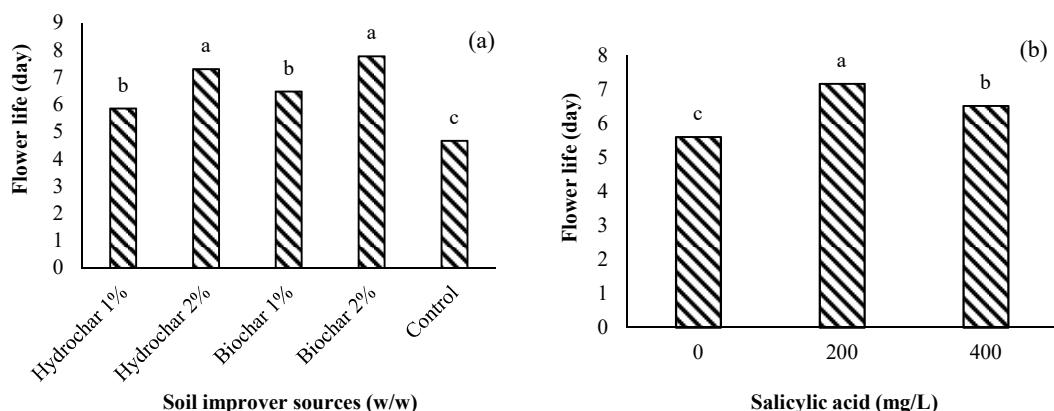
گرفت و نشان داده شد که صفات رویشی بامبو به طور معنی‌داری افزایش یافت (Wang *et al.*, 2018). کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه گلوکسینیا سبب گلدهی گردید و گیاهان تیمار شده پس از ۲۴ روز گل دادند در حالیکه گیاهان شاهد پس از ۳۰ روز به گلدهی رفته‌اند (Davis, 2004).

صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیابی

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیابی در این پژوهش نشان داد که اثرات اصلی منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر تمامی صفات مورد مطالعه در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد و اثرات متقابل آن‌ها نیز بر تمامی صفات به غیر از نشت یونی و مالون دی‌آلدهید در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

طول عمر گل

نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار و هیدروچار سبب افزایش طول عمر گل همیشه بهار نسبت به تیمار شاهد شدند به گونه‌ای که بیوچار و هیدروچار ۲ درصد وزنی و همچنین بیوچار و هیدروچار ۱ درصد وزنی به ترتیب سبب افزایش ۳۶، ۳۹ و ۲۰ درصدی طول عمر گل نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف منابع اصلاح کننده) شدند (شکل ۴-a). محلول پاشی اسید سالیسیلیک نیز تأثیر مثبتی در روند افزایشی طول عمر گل نسبت به تیمار شاهد داشت به گونه‌ای که کاربرد ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک طول عمر گل را به ترتیب حدود ۲۸ و ۱۶ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف اسید سالیسیلیک) افزایش دادند (شکل ۴-b). آزمایشی گلدانی به منظور بررسی اثرات بیوچار بر صفات رویشی گیاه بامبو انجام



شکل ۴. a) مقایسه میانگین اثر منابع اصلاح کننده خاک بر عمر گل همیشه بهار، b) مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر عمر گل همیشه بهار.

Figure 4. a) Mean comparison effect of soil improver sources on flower life of marigold, b) Mean comparison effect of salicylic acid on flower life of marigold.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیابی همیشه بهار.

Table 2. Results of variance analysis effect of soil improver sources and salicylic acid on some physiological and biochemical parameters of marigold.

Source of variation	df	Mean of squares					
		Ion leakage	Total chlorophyll	Malon dialdehyde	Protein	Peroxidase activity	Ascorbate peroxidase activity
Salicylic acid (SA)	2	174.64**	1.18**	499.45**	239.81**	26.24**	212.19**
Soil improver sources (SO)	4	301.17**	2.11**	320.09**	160.11**	28.96**	163.60**
SA× SO	8	2.66 ^{ns}	0.10**	7.47 ^{ns}	20.43**	0.58**	10.04**
Error	30	36.99	0.03	32.70	11.12	0.27	2.87
C. V. (%)	-	14.67	12.82	14.07	16.77	12.43	14.34

*, ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

*، **، ns: Significantly difference at the 5 and 1% of probability level, and non-significantly difference, respectively.

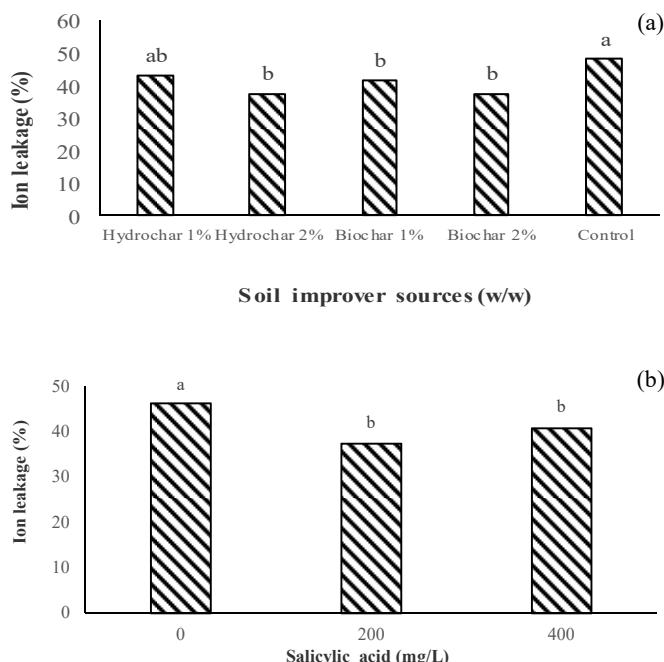
سبب افزایش حفظ و یکپارچگی غشاء و عملکردهای غشاء می‌شود (Aftab *et al.*, 2011). گزارش شده است که غلظت ۱/۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک میزان نشت الکتروولیت گیاه گوجه فرنگی را در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۴۴ درصد و در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار تا ۳۲ درصد کاهش می‌دهد (Stevens *et al.*, 2006).

کلروفیل کل

نتایج مرتبط با اندازه‌گیری رنگیزه فتوستنتزی کلروفیل کل نشان داد کاربرد منابع اصلاح کننده خاک و محلول پاشی با هورمون اسید سالیسیلیک روند افزایشی در میزان کلروفیل کل برگ در پی داشت. بیشترین میزان کلروفیل کل در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک با کاربرد بیوچار یا هیدروچار ۲/۴۲ درصد وزنی به ترتیب به میزان ۲/۶۵ و میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و کمترین میزان آن در سطح صفر (شاهد) اسید سالیسیلیک و عدم مصرف بیوچار یا هیدروچار به میزان ۰/۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مشاهده گردید (شکل ۶).

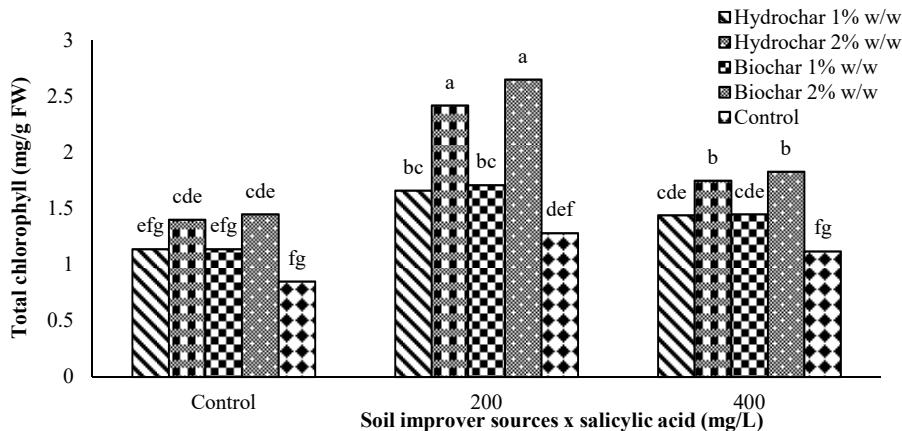
نشت یونی

نتایج نشان داد کاربرد بیوچار و هیدروچار در گیاه همیشه بهار سبب کاهش نشت یونی شد به گونه‌ای که بالاترین میزان نشت یونی در تیمار شاهد (۴۷/۹۶ درصد) و پایین‌ترین میزان آن در بیوچار و هیدروچار ۲ درصد وزنی به ترتیب به میزان ۳/۷۳ و ۳/۷۵ درصد بود. بین سطوح مختلف منابع اصلاح کننده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵-a). کاربرد اسید سالیسیلیک سبب کاهش نشت یونی شد. غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک به ترتیب ۱۹ و ۱۰ درصد نشت یونی را نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل ۵-b). طی پژوهشی نشان داده شد که افروden بیوچار به بستر کشت گیاه آفتتابگردان، عملکرد و صفات فیزیولوژیک این گیاه را به طور معنی‌داری بهبود داد که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت (Seleiman *et al.*, 2019). کاهش نشت یونی در گیاه با کاربرد بیوچار را می‌توان با تأثیر آن در افزایش نگهداری آب و مواد مغذی مرتبط دانست (Nemati *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک با القای مکانیزم‌های آنتی‌اکسیدانی



شکل ۵. a) مقایسه میانگین اثر منابع اصلاح کننده خاک بر نشت یونی برگ همیشه بهار، b) مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر نشت یونی برگ همیشه بهار.

Figure 5. a) Mean comparison effect of soil improver sources on ion leakage of leaf of marigold, b. Mean comparison effect of salicylic acid on ion leakage of leaf of marigold.



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر میزان کلروفیل کل برگ همیشه بهار.
Figure 6. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on leaf total chlorophyll content of marigold.

نسبت به تیمار شاهد کاهش دادند (شکل ۷-a). اسید سالیسیلیک نیز سبب کاهش میزان مالون دیآلدهید برگ شد. به گونه‌ای که غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک میزان مالون دیآلدهید را به ترتیب حدود ۱۹ و ۱۴ درصد نسبت به شاهد کاهش دادند. بین تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۷-b). پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء نشان‌دهنده آسیب در سطح سلولی می‌باشد و سطح مالون دیآلدهید تولید شده در طی این فرآیند به عنوان یک شاخص از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Demiral & Türkan, 2005). کاربرد بیوچار در گیاه زینتی فیکوس سبب کاهش میزان مالون دیآلدهید شد (Kumar et al., 2019). کاهش میزان مالون دیآلدهید برگ در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه خرفه نیز گزارش شده است (Yazici et al., 2007).

پروتئین

با کاربرد سطوح مختلف منابع اصلاح کننده خاک و همچنین با افزایش محلول پاشی هورمون اسید سالیسیلیک میزان پروتئین برگ گیاه همیشه بهار نسبت به تیمار شاهد روند افزایشی داشت به گونه‌ای که بیشترین مقدار پروتئین در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک با کاربرد بیوچار ۲ درصد وزنی به میزان ۴۶/۳۰ میکروگرم بر گرم

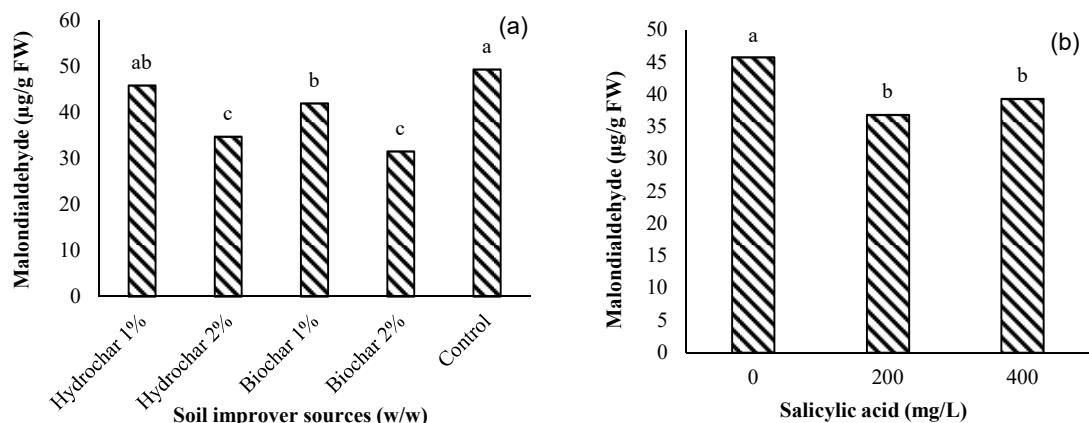
در این پژوهش نشان داده شد که بیوچار بیشترین تأثیر را در افزایش رنگیزهای فتوسنتری داشت. افزایش محتوای کلروفیل با کاربرد بیوچار به دلیل تأثیر مستقیم بر آن در جذب منیزیوم می‌باشد که جزو مهمی از رنگدانه کلروفیل است (Abeer et al., 2015) Zulfiqar et al. (2019). این نتایج با یافته‌های Dr. Hayat et al., 2010) اسید سالیسیلیک را افزایش داد که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت (Gautam & Singh, 2009).

مالون دیآلدهید

یافته‌ها نشان داد که در این گیاه میزان مالون دیآلدهید با افزایش سطوح بیوچار و هیدروچار کاهش پیدا می‌کند، بین تیمار هیدروچار ۱ درصد وزنی و شاهد تفاوتی وجود نداشت به گونه‌ای که مقدار این ماده در تیمار شاهد ۴۹/۲۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ و در تیمار هیدروچار ۱ درصد وزنی به میزان ۴۵/۸۰ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ مشاهده شد. هیدروچار و بیوچار ۲ درصد وزنی و نیز بیوچار ۱ درصد وزنی مالون دیآلدهید برگ را حدود ۲۹، ۳۶ و ۱۵ درصد

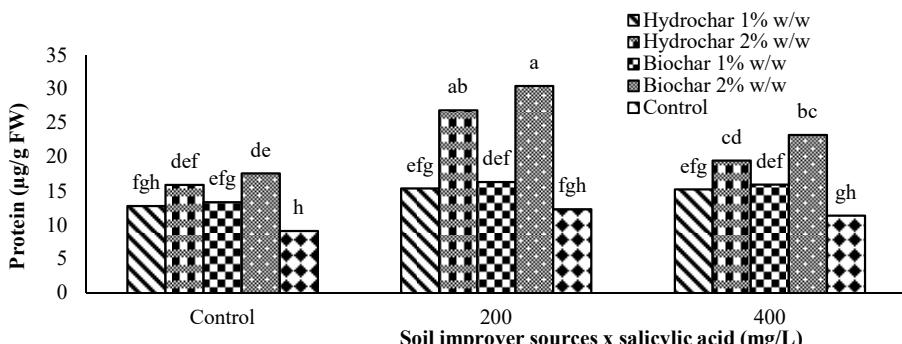
فعالیت آنزیم پراکسیداز

ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ گیاه همیشه بهار نشان داد که با افزایش منابع اصلاح کننده خاک و همچنین محلول پاشی هورمون اسید سالیسیلیک مقدار فعالیت این ماده افزایش یافت. به گونه‌ای که بالاترین فعالیت این آنزیم در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک با کاربرد بیوچار ۲ درصد وزنی به میزان ۷/۹۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد و کمترین مقدار آن در سطح صفر (شاهد) اسید سالیسیلیک بدون مصرف بیوچار و هیدروچار به میزان ۱/۰۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین دیده شد (شکل ۹). طی پژوهشی نشان داده شد که افزودن بیوچار به *Amaranthus mangostanus* L. بستر کشت گیاه تاج خروس (جای افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردید (Jia et al., 2019).



شکل ۷. a) مقایسه میانگین اثر منابع اصلاح کننده خاک بر مالون دی‌آلدهید برگ همیشه بهار، b) مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر مالون دی‌آلدهید برگ همیشه بهار.

Figure 7. a) Mean comparison effect of soil improver sources on malondialdehyde of leaf of marigold, b) Mean comparison effect of salicylic acid on malondialdehyde of leaf of marigold.



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر پروتئین برگ همیشه بهار.

Figure 8. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on leaf protein of marigold.

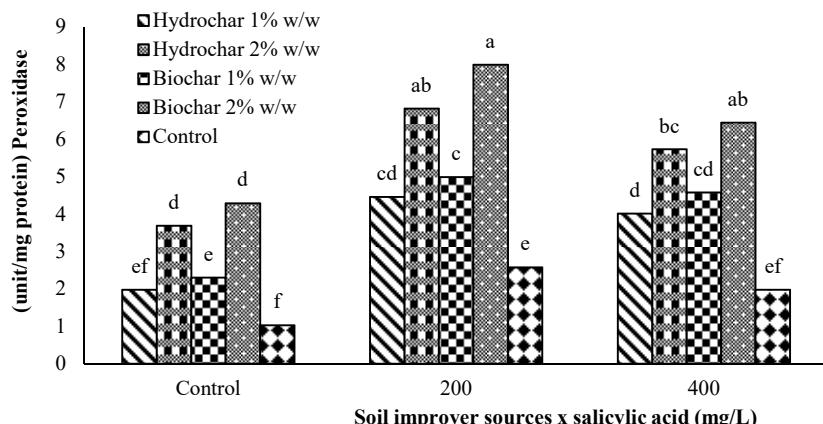
وزن تر برگ و کمترین مقدار آن در سطح صفر (شاهد) اسید سالیسیلیک بدون مصرف منابع اصلاح کننده خاک به میزان ۱۰/۹ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ دیده شد (شکل ۸). با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با افزایش مواد آنتی‌اکسیدانی و حفاظت از غشاء و پروتئین‌ها سبب افزایش میزان پروتئین می‌شود. این نتیجه با نتایج Gharib (2007) و Maity & Bera (2009) بر روی گیاه ماش همسو بود. در این پژوهش بیوچار و هیدروچار باعث افزایش میزان پروتئین برگ نسبت به تیمار شاهد شدند. در گیاه زینتی سینگونیوم نشان داده شد که با افزودن بیوچار به بستر کشت میزان پروتئین نسبت به شاهد افزایش یافت که با نتایج این پژوهش همسو بود (Zulfiqar et al., 2019).

فعالیت این آنزیم روند صعودی داشت. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک با کاربرد بیوچار ۲ درصد وزنی به میزان $25/49$ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و کمترین مقدار آن در سطح صفر (شاهد) اسید سالیسیلیک بدون مصرف بیوچار و هیدروچار به میزان $4/45$ واحد بر میلی‌گرم پروتئین دیده شد (شکل ۱۰). افزودن بیوچار به بستر کشت گیاه آفتابگردان سبب افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردید (Shahbaz *et al.*, 2018). محلول پاشی گیاه خیار با اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ شد (Yildirim *et al.*, 2008).

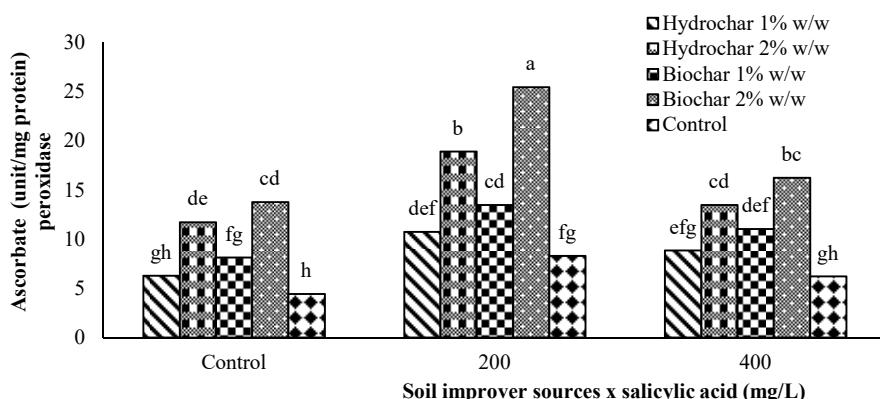
می‌توان گفت اسید سالیسیلیک با فعال کردن سیستم آنتی اکسیدانی سبب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد و محافظت از گیاه در برابر خسارت ناشی از تنفس می‌شود. کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسیداز و موجب افزایش تحمل به شوری در گیاهان گردید (Yusuf *et al.*, 2008).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

ارزیابی مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ نشان داد که با افزایش سطوح بیوچار و هیدروچار و همچنین محلول پاشی اسید سالیسیلیک مقدار



شکل ۹. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ همیشه بهار.
Figure 9. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on leaf peroxidase enzyme activity of marigold.



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر متقابل منابع اصلاح کننده خاک و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ همیشه بهار.

Figure 10. Mean comparison interaction effect of soil improver sources and salicylic acid on leaf ascorbate peroxidase enzyme activity of marigold.

کننده خاک، بیوچار ۲ درصد وزنی بیشترین تأثیر را در بهبود عملکرد گیاه داشت. از این رو می‌توان بیوچار به میزان ۲ درصد وزنی همراه با اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر را جهت افزایش عملکرد و کیفیت گل همیشه بهار توصیه نمود.

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش نشان داد که در تمام صفات، بیوچار و هیدروچار ۲ درصد وزنی و اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، در بهبود رشد و عملکرد گیاه مؤثرتر واقع شد. از بین مواد اصلاح

REFERENCES

1. Abeer, H., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A. & Egamberdieva, D. (2015). Induction of salt stress tolerance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] by arbuscular mycorrhizal fungi. *Legume Research-An International Journal*, 38(5), 579-588.
2. Aftab, T., Masroor, M., Khan, A., Teixeira Da Silva, J. A., Idrees, M., Naeem, M. & Moinuddin. (2011). Role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. *Journal of Plant Growth Regulation*. 30, 425-435.
3. Alaey, M., Babalar, M., Naderi, R. & Kafi, M. (2011). Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase-life of rose cut flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 61(1), 91-94.
4. Bayat, H., Alirezaie, M. & Neamati, H. (2012). Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8(1), 258-267.
5. Borghei, M., Arjmandi, R. & Moogouei, R. (2011). Potential of *Calendula alata* for phytoremediation of stable cesium and lead from solutions. *Environmental Monitoring Assessment*, 181, 63-68.
6. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
7. Davis, P. J. (2004). Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action. *Kluwer Academic Publishers*, 1-750.
8. Demiral, T. & I. Türkanc. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Journal Environmental and Experimental Botany*, 53, 247-257.
9. Fathi, M., Rezzi, S., Motaghian, H. & Barzegar, R. (2021). Effect of different levels of soilless cultured cut rose debris biochar and slow release fertilizer on growth of *Cyclamen persicum* L. seedling. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(4), 837-847. (In Farsi).
10. Gautam, Sh. & Singh, P. K. (2009). Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 1185-1190.
11. Gharib, F. A. E. (2007). Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(2), 294-301.
12. Ghasemi ghahsareh, M. & Kafi, M. (2011). Scientific and practical floriculture (5th Ed.). Publisher Author, 1, 1-312. (In Farsi).
13. Glaser, B., Lehmann, J. & Zech, W. (2002). Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal: a review. *Journal of Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 219-230.
14. Guo, Y., Niu, G., Starman, T., Volder, A. & Gu, M. (2018). Poinsettia growth and development response to container root substrate with biochar. *Horticulturae*, 4, 1-14.
15. Habibi, H., Moteshare zadeh, B. & Alikhani, H. (2017). The effect of biochar and biological treatments (phosphorus, potassium, calcium, magnesium, iron and manganese) of *Amaranthus* plant in a soil contaminated with petroleum compounds. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 48(2), 369-384. (In Farsi).
16. Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 14-25.
17. Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photo peroxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
18. Hosseini, S. M., Kafi, M. & Arghavani, M. (2016). Effect of salicylic acid on physiological and morphological characteristics of *Lolium perenne* cv. Numan under drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47(2), 167-176. (In Farsi).
19. Hu, B., Wang, K., Wu, L., Yu, S. H., Antonietti, M. & Titirici, M. M. (2010). Engineering carbon materials from the hydrothermal carbonization process of biomass. *Advanced Materials*, 22(7), 813-828.

20. Jabbarzadeh, Z., Khosh-Khui, M. & Salehi, H. (2009). The effect of foliar applied salicylic acid on flowering of african violet. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 4693-4696.
21. Jia, W., Ma, C., White, J. C., Yin, M., Cao, H., Wang, J., Wang, C., Sun, H. & Xing, B. (2019). Effects of biochar on 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexabrominated diphenyl ether (BDE-153) fate in *Amaranthus mangostanus* L.: accumulation, metabolite formation, and physiological response. *Science of the Total Environment*, 651, 1154-1165.
22. Kader, M. K., Mmian, H. & Hoyue, M. S. (2002). Effects of azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences*, 2, 250-261.
23. Kumar, A., Joseph, S., Tsechansky, L., Schreiter, I., Schuth, C., Taherysoosavi, S., Mitchell, D. & Graber, E. (2019). Mechanistic evaluation of biochar potential for plant growth promotion and alleviation of chromium-induced phytotoxicity in *Ficus elastica*. *Chemosphere*, 243, 1-23.
24. Kumar, S. P. (2011). Effect of different mulches and irrigation method on root growth nutrient uptake, water-use efficiency and yield of strawberry. *Horticulture Science*, 127, 318-324.
25. Laird, D., Fleming, P., Wang, B., Horton, R., Laird, Z. & Karlen, D. (2010). Biochar impact on nutrient leaching from a midwestern agricultural soil. *Geoderma*, 158, 436-442.
26. Lehmann, J. & Joseph, S. (2009). Biochar for environmental management: an introduction. *Science and Technology*, 1-416.
27. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
28. Maity, U. & Bera, A. K. (2009). Effect of exogenous application of brassinolide and salicylic acid on certain physiological and biochemical aspects of green gram (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Indian Journal of Agricultural Research*, 43(3), 55-64.
29. Masto, R. E., Kumar, S., Rout, T., Sarkar, P., George, J. & Ran, L. (2013). Biochar from water hyacinth (*Eichornia crassipes*) and its impact on soil biological activity. *Catena*, 111, 64-71.
30. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880.
31. Namgay, T., Singh, B. & Singh, B. P. (2010). Influence of biochar application to soil on the availability of As, Cd, Cu, Pb, and Zn to maize (*Zea mays* L.). *Journal of Soil research*, 48(7), 638-647.
32. Nemati, M. R., Simard, F., Fortin, J. P. & Beaudoin, J. (2015). Potential use of biochar in growing media. *Vadose Zone Journal*, 14(6), 1-8.
33. Novak, J. M., Spokas, K. A., Cantrell, K. B., Ro, K. S., Watts, D. W., Glaz, B., Busscher, W. J. & Hunt, P. G. (2014). Effects of biochars and hydrochars produced from lignocellulosic and animal manure on fertility of a mollisol and entisol. *Soil Use and Management*, 30(2), 175-181.
34. Paneque, M., Knicker, H., Kern, J. & De la Rosa, J. M. (2019). Hydrothermal carbonization and pyrolysis of sewage sludge: effects on *Lolium perenne* germination and growth. *Agronomy*, 9, 363-375.
35. Petrović, J., Perišić, N., Maksimović, J. D., Maksimović, V., Kragović, M., Stojanović, M. & Mihajlović, M. (2016). Hydrothermal conversion of grape pomace: detailed characterization of obtained hydrochar and liquid phase. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 118, 267-277.
36. Putter, J. (1974). Methods of enzymatic analysis. *Academic Press*, 2, 1-685.
37. Seleiman, M. F., Refay, Y., Al-Suhailani, N., Al-Ashkar, I., El-Hendawy, S. & Hafez, E. M. (2019). Integrative effects of rice-straw biochar and silicon on oil and seed quality, yield and physiological traits of *Helianthus annuus* L. grown under water deficit stress. *Agronomy*, 9, 637-658.
38. Shahbaz, A. K., Lewinska, K., Iqbal, J., Ali, Q., Rahman, M., Iqbal, M., Abbas, F., Tauqueer, H. M. & Ramzani, P. M. A. (2018). Improvement in productivity, nutritional quality, and antioxidative defense mechanisms of sunflower (*Helianthus annuus* L.) and maize (*Zea mays* L.) in nickel contaminated soil amended with different biochar and zeolite ratios. *Journal of Environmental Management*, 218, 256-270.
39. Sohi, S., Lopez-Capel, E., Krull, E. & Bol, R. (2009). Biochar's role in soil and climate change: a review of research needs. *CSIRO Land and Water Science Report*, 59, 1-57.
40. Stevens, J., Senaratna, T. & Sivasithamparam, K. (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation*, 49, 77-83.
41. Sun, Y., Gao, B., Yao, Y., Fang, J., Zhang, M., Zhou, Y., Chen, H. & Yang, L. (2014). Effects of feedstock type, production method, and pyrolysis temperature on biochar and hydrochars properties. *Chemical Engineering Journal*, 240, 574-578.
42. Vanaker, H., Lu, H., Rate, D. N. & Greenberg, J. T. (2001). A role for salicylic acid and NPR1 in regulating cell growth in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 28, 209-216.

43. Vaughn, S. F., Kenar, J. A., Thompson, A. R. & Peterson, S. C. (2013). Comparison of biochars derived from wood pellets and pelletized wheat straw as replacements for peat in potting substrates. *Industrial Crops and Products*, 51, 437-443.
44. Wang, Y., Zhong, B., Shafi, M., Ma, J., Guo, J., Wu, J., Ye, Z., Liu, D. & Jin, H. (2018). Effects of biochar on growth, and heavy metals accumulation of moso bamboo (*Phyllostachy pubescens*), soil physical properties, and heavy metals solubility in soil. *Chemosphere*, 216, 1-30.
45. Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A. H. & Demiral, T. (2007). Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany*, 61(1), 49-57.
46. Yildirim, E., Turan, M. & Guvenc, I. (2008). Effect of foliar salicylic acid applications on growth chlorophyll and mineral content of cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 31, 593-612.
47. Yusuf, M., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. & Ahmad, A. (2008). Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(8), 1-4.
48. Zhang, L., Sun, X., Tian, Y. & Gong, X. (2014). Biochar and humic acid amendments improve the quality of composted green waste as a growth medium for the ornamental plant *Calathea insignis*. *Scientia Horticulturae*, 176, 70-78.
49. Zhang, Y., Chen, K., Zhang, S. & Ferguson, I. (2006). The role of salicylic acid in post-harvest ripening of kiwifruit. *Post-harvest Biology and Technology*, 28, 67-74.
50. Zulfiqar, F., Younis, A. & Chen, J. (2019). Biochar or biochar-compost amendment to a peat-based substrate improves growth of *Syngonium podophyllum*. *Agronomy*, 9, 460-471.