

بررسی تأثیر کاربرد اسید آسکوربیک و همزیستی کود های زیستی بر گیاه داروی ریحان تحت تاثیر تنش خشکی

محسن حمیدی^۱

گروه زراعت، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین

چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر کاربرد اسید آسکوربیک و همزیستی قارچ مایکوریزا و باکتری آزوسپریلیوم بر گیاه داروی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تاثیر رژیم های مختلف آبیاری. آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار و در دو سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در روستای قمصر واقع شهرستان شهرری اجرا گردید. در این آزمایش آبیاری به عنوان عامل اصلی در سه سطح شامل: تنش خشکی بر اساس ۱۰۰،۷۰،۴۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A و کود زیستی شامل باکتری محرک رشد آزوسپریلیوم و قارچ مایکوریزا در چهار سطح شامل: الف) عدم مصرف ب) بذر مال باکتری آزوسپریلیوم ج) مصرف قارچ مایکوریزا به صورت بذر مال د) کاربرد توام باکتری های محرک رشد آزوسپریلیوم به همراه قارچ مایکوریزا به صورت بذر مال و اسید آسکوربیک در دو سطح شامل الف) عدم کاربرد اسید آسکوربیک و ب) کاربرد اسید آسکوربیک به صورت فاکتوریل به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. بیشترین عملکرد بیولوژیک در تنش خشکی ۴۰ میلیمتر و کاربرد مایکوریزا با میانگین ۷۰۰۲/۲۱ کیلوگرم در هکتار به دست آمد که در حدود ۷۰٪ بیشتر از تیمار تنش ۱۰۰ میلیمتر تبخیر و عدم صرف کود بیولوژیک بود. سایر نتایج نشان دهنده آن بود که استفاده از آسکوربیک اسید در شرایط تنش خشکی ۴۰ میلیمتر منجر افزایش ۴۵٪، هورمون اکسین، ۳۰٪ محتوی نسبی آب برگ نسبت به تیمار عدم مصرف اسید آسکوربیک و تنش ۱۰۰ میلیمتر تبخیر گردید.

کلید واژه: گیاه ریحان، تنش خشکی، کود بیولوژیک، اسید آسکوربیک، عملکرد بیولوژیک

مقدمه

رشد روزافزون جمعیت جهان و نیاز بیشتر به تولیدات کشاورزی از مسائل مهمی است که امروزه بشر با آن روبرو است. و در این ارتباط محدودیت منابع آب و خاک به عنوان بستر اصلی تولیدات کشاورزی نیز مطرح بوده به طوری که هم اکنون استفاده بهینه از منابع آب در سرلوحه فعالیت های کشورهای مختلف قرار گرفته است (Abedi and Pakniyat, 2010). تنش خشکی نقش مستقیمی بر رشد و نمو گیاه ایفا می کند (Taha et al., 2020). محققان بیان داشته اند که تنش خشکی باعث محدود شدن ترکیبات هومونی و افزایش ترکیبات بیومارکر های تخریب می شود که هر کدام نقش موثر بر تقسیم سلولی مؤثر می باشند (Mohammadi et al., 2015). گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) یکی از جنس های مهم تیره نعناع بوده و به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده در ایران مورد استفاده قرار می گیرد (Ahmad et al., 2010). استفاده مداوم از کودهای شیمیایی رایج می تواند میگرورگانسیم ها و حاصلخیزی خاک را به طور محسوسی کاهش دهد (Gregorich et al., 2006). کاهش فعالیت کرم های خاکی به وسیله به کارگیری مقادیر زیاد کودهای شیمیایی به علت تغلیظ بیشتر نمک در محلول خاک گزارش گردیده است (Zhao et al., 2010). از جمله این موجودات می توان به ریزو باکترهای محرک رشد گیاه یا PGPR^۱ اشاره کرد (Gupta et al., 2015). این گروه از باکتری ها از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم، افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک، مهار عوامل بیماریزا و همچنین تولید هورمون های تنظیم کننده رشد گیاه، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می دهند. این باکتری ها از آن جهت باکترهای محرک رشد گیاه PGPR نامیده می شوند که تاثیر افزایش دگی بر رشد و نمو گیاهان زراعی دارند (Raghavendra et al., 2016). گروه دیگر از میکرو ارگانسیم های مفید خاک قارچ های میکوریزا می باشند که دارای رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان زراعی می باشند و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر و برخی عناصر کم مصرف، افزایش جذب آب، کاهش تاثیر منفی تنش های محیطی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری زا، سبب بهبود در رشد و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم های کشاورزی پایدار می شود (Akiyama et al., 2005). در گزارشی عنوان گردید که استفاده از کودهای بیولوژیک در سیستم های زراعی مختلف امکان دارد ۴۰-۲۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۲۰-۱۰ کیلوگرم در هکتار فسفر در هر فصل زراعی ذخیره نماید (Dadrasan et al., 2015). اسید آسکوربیک سبب بهبود فتوسنتز و تولید فرآورده های کربنی می شود. افزایش قندهای محلول در شرایط تنش با تأثیر بر پتانسیل اسمزی در حفظ سلامت و عملکرد غشاهای سلولی که در شرایط تنشی دچار آسیب می شوند، نقش دارد (Wang et al., 2012). از این رو این طرح با هدف بررسی اثر بارکتری محرک رشد آزوسپریلیوم و همزیستی قارچ مایکوریزا و تاثیر کاربرد اسید آسکوربیک بر میزان افزایش مقاومت به خشکی که از مباحث مورد مطالعه در کشاورزی پایدار می باشد، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در روستای قمصر واقع در شهرستان شهرری به مدت دو سال زراعی و به صورت آزمایش اسپلیت فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید. در این آزمایش: آبیاری به عنوان عامل اصلی در سه سطح شامل: تنش خشکی بر اساس ۱۰۰، ۷۰، ۴۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A و کودهای زیستی شامل باکتری آزوسپریلیوم و قارچ مایکوریزا در چهار سطح شامل: الف) عدم مصرف ب) بذر مال باکتری آزوسپریلیوم ج) مصرف قارچ مایکوریزا به صورت بذر مال د) کاربرد توام باکتری آزوسپریلیوم به همراه قارچ مایکوریزا به صورت بذر مال و

^۱ Planth Growth Promoting Rhizobacteria

اسید آسکوربیک در دو سطح محلول پاشی شامل الف) عدم مصرف اسید آسکوربیک و ب) مصرف ۲ مولار اسید آسکوربیک به صورت فاکتوریل به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. هر تکرار شامل ۲۴ کرت و هر کرت شامل ۴ ردیف به طول ۳ متر با فاصله ردیف ها ۴۰ سانتیمتر و فاصله بوته ۵ سانتیمتر در نظر گرفته شد. فاصله بین تکرارها نیز ۳ متر تعیین شد. از هر کرت آزمایش دو خط اول و آخر به عنوان حاشیه در نظر گرفته شده و از ۲ خط وسط برای اندازه گیری صفات زراعی و فیزیولوژیک استفاده شد. آبیاری به صورت نشتی انجام و بذرها در عمق چهار تا پنج سانتیمتری کشت گردید تاریخ کاشت در سال اول ۲۰ اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ و در سال دوم ۱۵ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷ انجام گردید. پیش از انجام آزمایش مزرعه ای برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه برداری از عمق ۳۰ - ۰ سانتی متری خاک صورت پذیرفت. نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در (جدول ۱ - ۱) نشان داده شده است.

جدول ۱ - مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

TEXTURE				pH		
	SAND (%)	SALT (%)	Clay (%)		ds.m (Ec)	Depth (cm)
Clay	25	22	53	7.3	3.8	0-30

N (ppm)	K (ppm)	P (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	OC (%)
1.1	210	10	2.2	2.5	1.1	1.5	0.8

در این آزمایش تیمار تنش خشکی به عنوان عامل اصلی به ترتیب ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A صورت پذیرفت و عوامل فرعی شامل کود باکتری محرک رشد آزوسپریلیوم مورد نظر در آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب، فرموله و تهیه شد. در تیمارهایی که بایستی بذور با این کود تلقیح شوند، پس از محاسبه میزان بذر برای هر تیمار و ریختن آن ها در داخل یک کیسه پلی اتیلنی، مقدار ۲۰ میلی لیتر صمغ عربی به آن اضافه شد. آن گاه کیسه حاوی بذر و ماده چسباننده برای مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شد تا سطح کلیه بذرها به طور یکنواخت چسبناک گردد. پس از آن، مقدار ۲۰ گرم از مایه تلقیح به بذرها چسبناک اضافه شد و پس از ۴۵ ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایه تلقیح به بذرها، بذرها آغشته به مایه تلقیح بر روی ورقه آلومینیومی تمیز در زیر سایه پهن شدند تا بذور، خشک شوند (Somasegaran and Hoben, 1994). کود مایکوریزا حاوی مخلوط دو گونه Funneliformis mosseae و Rhizophagus irregularis با جمعیت مساوی ۳۰ اسپور در هر گرم بود. مایه تلقیح قارچ از شرکت زیست فناوری پیشتاز واریان تهیه گردید. جهت تلقیح ماده تلقیح به صورت لایه ای در عمق یک سانتیمتری خاک بستر قرار گرفت و سپس به سرعت نسبت به کاشت بذور اقدام شد. کاشت بذور بر روی خطوط کاشت در عمق یک سانتی متر انجام گرفت. همچنین از اسید آسکوربیک به میزان ۲ مولار (دو روز پس از اعمال تیمار دور آبیاری) و به صورت محلول پاشی استفاده گردید.

جهت اندازه گیری عملکرد بیولوژیک پس از رعایت حاشیه ای، مساحت ۲ متر مربع از هر کرت برای محاسبه عملکرد بیولوژیک در هکتار پس از کف بر و خشک کردن، در نظر گرفته شد. محتوی نسبی آب برگ (RWC) با استفاده از فرمول Levitt (1980) اندازه گیری شد (فرمول - ۱).

$$RWC = (FW - DW / SW - DW) \times 100$$



که در این فرمول، Fw: وزن تازه، Dw: وزن خشک و Sw: وزن اشباع برگ ها می باشد. برای اندازه گیری هورمون اکسین^۲ (IAA) میزان ۱/۵ گرم بافت گیاهی وزن شده و در ۲۰ میلی لیتر محلول حاوی نسبت مساوی از متانول و آب دیونیزه وارد شد و در ۴ درجه سانتیگراد با هموژنایزر هموژن گردید. محلول حاصله در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و محلول روئی بر ستون کروماتوگرافی C18 قرار گرفت و با ۵ میلی لیتر آب دیونیزه شستشو شد. سپس ۳ میلی لیتر متانول ۸۰٪ عبور داده شد محلول استخراجی توسط مبرد در حرارت آزمایشگاه تبخیر گردید و بر باقی مانده مقدار ۱ میلی لیتر متانول ۲۰٪ که در آن ۱٪ اسید فرمیک باشد اضافه شد و مجدداً ۱ میلی لیتر متانول ۸۰٪ به آن اضافه شد، این محلول نهائی برای تعیین مقدار هورمون ها مورد استفاده در مرحله بعد قرار گرفت (Shengjie *et al.*, 2008).

برای تجزیه آماری از برنامه SAS استفاده شدو مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت پذیرفت. همچنین جهت رسم نمودارها نیز از برنامه آماری Excel استفاده شد.

نتایج

محتوی نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲ -) در رابطه محتوی نسبی آب بیان داشت که علاوه بر اثر ساده و اثرات متقابل تنش خشکی در کود بیولوژیک و اثر متقابل تنش خشکی در اسید آسکوربیک برای این صفت معنی دار گردید، ولی سایر اثرات متقابل معنی دار نبودند. بر اساس آزمون دانکن مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در اسید آسکوربیک بر محتوی نسبی آب ریحان نشان داد که در بین تیمارهای مختلف، تنش خشکی ۴۰ میلیتر و کاربرد توام مایکوریزا و آزوسپریلیوم و کاربرد مجزا مایکوریزا علاوه بر اینکه در یک گروه آماری قرار داشتند به ترتیب با میانگین ۸۷/۷۶ درصد و کاربرد کود مایکوریزا با میانگین ۸۷/۵۷ درصد بیشترین محتوی نسبی آب را به خود اختصاص داد که این میزان در حدود ۳۵ درصد بیشتر از کمترین محتوی نسبی آب ریحان که مربوط به تیمار تنش خشکی ۱۰۰ میلیتر و عدم مصرف کود های بیولوژیک بود. (جدول ۳ -). نتایج مشابه ای در خصوص تاثیر مثبت تلقیح قارچ مایکوریزا بر محتوی نسبی آب برگ گیاه ذرت در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Zhu *et al.*, 2012). محققان بیان داشتند گیاه ریحان در شرایط تنش خشکی تقریباً فعالیت های گلیکولات اکسیداز، پراکسید هیدروژن (H₂O₂) و پرولین را افزایش می دهند، اما کاهش فعالیت کاتالاز، اسید اسکوربیک و محتوی پروتئین. پتانسیل آب برگ (Ψ) و محتوی نسبی آب نیز با افزایش استرس کاهش می یابد (De Masi *et al.*, 2006). آسکوربیک اسید برون زا به تنهایی با افزایش میزان آب بافت ها، کربوهیدرات ها و پروتئین ها موجب افزایش رشد گیاهان شاهی در مقایسه با شرایط شاهد شد. به نظر می رسد که آسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی اکسیدان با کاهش آثار مضر شوری مقاومت به تنش را در گیاه شاهی افزایش می دهد و موجب بهبود رشد می گردد.

جدول ۲ - تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر صفات محتوی نسبی آب برگ، هورمون اکسین و

عملکرد بیولوژیک

S.O.V.	Df	Mean Square		
		Relative water content	Axin	Biological yield
Year	1	10.687**	10451.654**	9272532.51**

² Auxin

Rep (year)	4	1.33	857.123	57001.85
D	2	7058.443**	39468.336**	18937789.39**
Year*D	2	0.246n.s	72.648*	287329.8*
Rep*D (year)	8	1.442**	19.371n.s	70658.2n.s
B	3	26.488**	16633.066**	8275585.47
B (year)	3	0.092n.s	15.777n.s	137070.11n.s
A	1	0.654*	5198.41**	188942.01*
A (year)	1	0.049n.s	21.313n.s	6463933.36**
D × B	6	0.659**	272.191**	442624.21**
B (year) × D	6	0.075n.s	12.133n.s	13992.8n.s
D × A	2	0.556*	180.829**	458648.12**
A (year) × D	2	0.115 n.s	5.585n.s	317300.43*
D × B	3	0.006 n.s	53.219 n.s	162730.35n.s
D (year) × B	3	0.059 n.s	10.822n.s	211573.66*
A × B × D	6	0.229 n.s	25.087n.s	148942.01n.s
A × B × D (year)	6	0.069 n.s	5.626n.s	12796.06n.s
Total	84	0.151	21.227	73300.06
C.V. (%)		10.52	10.1	13.43

***، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم اختلاف معنی دار می

باشند.

اثر متقابل تنش خشکی در اسید آسکوربیک بر محتوی نسبی آب برگ ریحان نشان داد که در بین تیمارهای مختلف، تنش خشکی ۴۰ میلیمتر و مصرف اسید آسکوربیک بیشترین محتوی نسبی آب حاصل گردید. محتوی نسبی آب برگ ریحان در این تیمار ۸۶/۹۹ درصد بود هرچند که این نتایج با تیمار ۴۰ میلیمتر تبخیر و عدم مصرف اسید آسکوربیک نیز در یک گروه آماری قرار داشت، پایین ترین میزان محتوی نسبی آب ریحان نیز با ۶۱/۶۷ درصد مربوط به تیمار تنش خشکی ۱۰۰ میلیمتر و عدم مصرف اسید آسکوربیک بود که نسبت به سایر تیمارهای تفاوت معنی دار داشت (جدول - ۴). این نتایج با یافته ای (Ergin *et al.*, 2014) مطابقت دارد. کاربرد اسید آسکوربیک موجب شد که بیشترین میزان بهره وری مصرف آب در گیاه حاصل گردد (Farjam *et al.*, 2015). تیمار اسید آسکوربیک همزمان با تنش شوری موجب افزایش محتوی نسبی آب برگ گیاه کتان تحت تنش شوری شد (El-Hariri and El-Bassiouny, 2010).

هورمون اکسین^۳ (IAA)

نتایج تجزیه واریانس (جدول - ۲) در رابطه محتوای هورمون اکسین بیان داشت که اثرات متقابل تنش خشکی در کود های بیولوژیک و اثر متقابل تنش خشکی در اسید آسکوربیک برای این صفت معنی دار گردید. ولی سایر اثرات متقابل معنی دار نبودند. نتایج مقایسه میانگین تنش خشکی در اسید آسکوربیک بر هورمون اکسین برگ ریحان نشان داد که در بین تیمارهای مختلف، تنش خشکی ۴۰ میلیمتر و مصرف کود های بیولوژیک به صورت کاربرد توأم مایکوریزا و آزوسپریلیوم بیشترین هورمون اکسین را به خود اختصاص داد. اکسین ریحان در این تیمار ۱۵۴/۷۹ (umol/g dry weight) بود و پایین ترین میزان این صفت نیز با میانگین ۴۴/۶۵ (umol/g dry weight) مربوط به تیمار تنش خشکی ۱۰۰ میلیمتر و عدم مصرف کود های بیولوژیک حاصل گردید. سایر نتایج این تیمار گویای آن بود که به طور کلی مصرف کود های بیولوژیک

³ Auxin (IAA)



هم در شرایط تنش و هم آبیاری مطلوب باعث افزایش محتوای هورمون اکسین می گردد (جدول - ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در اسید آسکوربیک بر اکسین ریحان نشان داد که در بین تیمارهای مختلف، تنش خشکی ۴۰ میلیمتر و مصرف اسید آسکوربیک بیشترین اکسین ۱۳۲/۸۱ (nmol per of protein) و پایین ترین آن نیز با میانگین ۶۴/۲۸ (nmol per of protein) مربوط به تیمار تنش خشکی ۱۰۰ میلیمتر و عدم مصرف اسید آسکوربیک بود. سایر نتایج این تیمار نشان دهنده آن بود که در شرایط تنش متوسط رطوبتی و عدم مصرف اسید آسکوربیک با میانگین ۸۷/۵۸ (umol/g dry weight) برآورد گردید که این میزان با مصرف اسید آسکوربیک در حدود ۱۳٪ افزایش یافت. محتوای اکسین در شرایط تنش شدید رطوبتی و با استفاده از اسید آسکوربیک با میانگین ۷۱/۸۸ (nmol per of protein) برآورد شد که نسبت به تیمار عدم مصرف اسید آسکوربیک در حدود ۱۰٪ افزایش نشان داد (جدول - ۴). بهبود شاخص های رشد در گیاه لوبیا (Alqurainy, 2007) و نخود (Beltagi, 2008) تحت شرایط تنش شوری و تیمار اسید آسکوربیک گزارش شده است.

عملکرد بیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس (جدول - ۲) در رابطه عملکرد بیولوژیک بیان داشت که علاوه بر اثرات ساده اثرات متقابل کود های بیولوژیک در اسید آسکوربیک و اثر متقابل تنش خشکی در کود های بیولوژیک در اسید آسکوربیک معنا دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در کود های بیولوژیک بر میزان این صفت نشان داد که در بین تیمارهای مختلف، تنش خشکی ۴۰ میلیمتر و مصرف کود های بیولوژیک به صورت کاربرد مجزای مایکوریزا با میانگین ۳۳۰۷/۱ کیلوگرم در هکتار و استفاده توأم از مایکوریزا و آزوسپریلیوم با میانگین ۳۱۸۳/۹۱ کیلوگرم در هکتار بدست آمد همچنین این دو تیمار در یک گروه آماری قرار داشتند و پایین ترین عملکرد بیولوژیک ریحان نیز با ۹۷۴/۸ کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار تنش خشکی ۱۰۰ میلیمتر و عدم مصرف کود های بیولوژیک بود. کاربرد کود مایکوریزا و همچنین ترکیب کودهای مایکوریزا و آزوسپریلیوم در تیمار تنش ۷۰ میلیمتر تبخیر به ترتیب ۱۶ و ۱۰ درصد بیشتر از تیمار آبیاری مطلوب و عدم مصرف کود های بیولوژیک بود. (جدول - ۳). نتایج تحقیقات دیگر نشان داد که تنش خشکی بر وزن خشک ریحان اثر معنی داری دارد و در مقایسه با شاهد کاهش می یابد (Sirousmehr *et al.*, 2014). در همین رابطه محققان با توجه به اندازه گیری های زیست توده، گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریزا نسبت به گیاهان غیر تلقیح شده با قارچ بیان داشتند که گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریزا در شرایط تنش خشکی پایدار تر بودند (Jayne & Quigley, 2014). در بررسی صورت گرفته بر گیاه ریحان دلیل کاهش مواد فتوسنتزی در شرایط تنش، عملکرد اندام هوایی، مقدار فسفر اندام هوایی، ارتفاع و وزن هزار دانه نیز کاهش یافت ولی این صفات تحت تاثیر تیمار قارچ مایکوریزا بهبود یافتند (Elhindi *et al.*, 2017). در تحقیق صورت گرفته بر روی گیاه داروی ریحان گزارش شده که تلقیح قارچ مایکوریزا در تنش سبب افزایش ماده خشک، شاخص سطح برگ، سرعت رشد نسبی و سرعت رشد محصول می شود (Zuccarini, & Okurowska, 2008).

جدول ۳ - مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و کود های بیولوژیک بر صفات محتوی نسبی آب برگ، هورمون اکسین و عملکرد بیولوژیک

Drought stress	Biological fertilizers	RWC (%)	Axin nmol per (of protein)	Biological yield (kg/ha)
40 mm	Nat use (control)	84.26b	91.47f	4982.71c
	Azospirium	86.53b	119.79c	6289.21b
	Mycorrhiza	87.52a	135.41b	8068.31a



60 mm	Azospirium + Mycorrhiza	87.76a	154.79a	7982.11a
	Nat use (control)	68.52d	70.35h	3528.11e
	Azospirium	73.13c	89.42f	4604.71d
	Mycorrhiza	77.67bc	104.12e	6425.11b
100 mm	Azospirium + Mycorrhiza	80.84b	113.57d	6624.71b
	Nat use (control)	56.72g	44.65j	3048.51f
	Azospirium	63.44f	63.65i	3947.31e
	Mycorrhiza	63.82e	74.11g	5401.51c
	Azospirium + Mycorrhiza	64.88de	89.93f	5154.32c

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت آماری معنی داری ندارند.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در اسید آسکوربیک بر عملکرد بیولوژیک ریحان نشان داد که در بین تیمارهای مختلف، تنش خشکی ۴۰ میلیمتر و مصرف اسید آسکوربیک بیشترین عملکرد بیولوژیک را به خود اختصاص داد عملکرد بیولوژیک ریحان در این تیمار ۲۸۳۱/۵۱ کیلوگرم در هکتار بود و پایین ترین عملکرد بیولوژیک ریحان نیز با ۱۴۰/۴۱ کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار تنش خشکی ۱۰۰ میلیمتر و عدم مصرف اسید آسکوربیک بود که نسبت به سایر تیمارهای تنش خشکی تفاوت معنی دار داشت (جدول - ۴). در همین رابطه کارشناسان دیگر بیان داشتند که اسید آسکوربیک در افزایش عملکرد دانه گیاه ریحان، وزن خشک بوته، رنگیزه های فتوسنتزی و حفظ محتوای آب برگ، نقش مهمی را ایفا می کند (Ardebili *et al.*, 2015). اسید اسکوربیک (AA) به عنوان آنتی اکسیدان اثر مثبتی بر رشد و تقسیم سلولی، تمایز و متابولیسم گیاهان دارد (Athar *et al.*, 2009). اسید آسکوربیک باعث افزایش طول ساقه، طول ریشه، عملکرد بیولوژیک و خشک اندام زمینی و هوایی می شود (Olle *et al.*, 2012).

جدول ۴ - مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و اسید آسکوربیک بر صفات محتوی نسبی آب برگ، هورمون اکسین و عملکرد بیولوژیک

Drought stress	Ascorbic acid	RWC (%)	Axin nmol per (of protein)	Biological yield (kg/ha)
40 mm	Nat use (control)	86.05a	117.92b	6559.01b
	Use	87.99a	132.81a	7002.21a
70 mm	Nat use (control)	69.36c	87.58d	4172.81e
	Use	79.72b	101.15c	5918.41c
100 mm	Nat use (control)	61.67d	64.28f	4331.81e
	Use	64.76c	71.88e	4844.01d

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت آماری معنی داری ندارند.

نتیجه گیری

در نتیجه آزمایشات، اثرات تنش خشکی بر گیاه ریحان نشان داد که کاهش محتوای آب برگ منجر به کاهش عملکرد بیولوژیک گیاه به دلیل کاهش هورمون اکسین می شود. از طرف دیگر، استفاده از کودهای بیولوژیک و اسید آسکوربیک می تواند مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی را افزایش دهد و در نهایت بهبود عملکرد آن را داشته باشد. همچنین، کاربرد کودهای بیولوژیک، به ویژه مایکوریزا و ترکیب مایکوریزا و آزوسپرلیوم، بهبود قابل ملاحظه ای در ویژگی های گیاه ریحان در شرایط تنش و آبیاری مطلوب ایجاد می کند. به طور کلی، استفاده از کودهای بیولوژیک و اسید آسکوربیک می تواند جایگزین

آنزیم‌های گیاهی شده و با کاهش خسارت بیومارکرها و افزایش هورمون‌های رشد گیاه، بهبودی در ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه ریحان در شرایط مختلف رطوبتی ایجاد کند.

Investigation of the effect of application of ascorbic acid and biofertilizers on basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant under the influence of drought stress

Mohsen Hamidi¹

1. Department of agriculture, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Iran

Dr.mohsenhamidi@gmail.com

In order to evaluate the effect of applying ascorbic acid and the symbiosis of mycorrhizal fungi and Azospirillum bacteria on the medicinal plant basil (*Ocimum basilicum* L.) under different irrigation regimes, an experiment was conducted in a split-factorial design within a complete randomized block design with three replications in the agricultural years of 1396-1397 in the village of Qamser, located in Shahr-e Rey County. In this experiment, irrigation was considered as the main factor at three levels, including drought stress based on 40, 70, 100 millimeters of evaporation from Class A pan, and biological fertilizer, including Azospirillum growth-stimulating bacteria and mycorrhizal fungi at four levels: A) non-consumption, B) seed inoculation with Azospirillum bacteria, C) consumption of mycorrhizal fungi as seed coating, and D) simultaneous application of Azospirillum growth-stimulating bacteria with mycorrhizal fungi as seed coating, along with the use of ascorbic acid at two levels: A) non-application of ascorbic acid, and B) application of ascorbic acid in a factorial manner as a sub-factor. The highest biological yield was achieved under 40 millimeters drought stress and the application of mycorrhizal fungi, with an average of 7002 kilograms per hectare, which was approximately 70% higher than the treatment with 100 millimeters evaporation stress and no use of biological fertilizer. Other results indicated that the use of ascorbic acid under 40 millimeters drought stress led to an increase of 45%, auxin hormone by 30%, and relative leaf water content compared to the treatment without the use of ascorbic acid and 100 millimeters evaporation stress.

Key words: Basil plant, drought stress, biological fertilizer, ascorbic acid, biological yield



منابع

- Abedi, T., & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzymes changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46(1), 27-34..
- Akiyama, K., Matsuzaki, K. I., & Hayashi, H. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435(7043), 824-827.
- Alqurainy, F. (2007) Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3: 714-722
- Ardebili, Z. O., ARDEBILI, N. O., Jalili, S., & Safiallah, S. (2015). The modified qualities of basil plants by selenium and/or ascorbic acid. *Turkish Journal of Botany*, 39(3), 401-407.
- Athar, H. U. R., Khan, A., & Ashraf, M. (2009). Inducing salt tolerance in wheat by exogenously applied ascorbic acid through different modes. *Journal of plant nutrition*, 32(11), 1799-1817.
- Beltagi, M. S. (2008) Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. *African Journal of Plant Science* 2(10): 118-123
- Dadrasan, M., Chaichi, M. R., Pourbabaee, A. A., Yazdani, D., & Keshavarz-Afshar, R. (2015). Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of fenugreek. *Industrial Crops and Products*, 77, 156-162
- De Masi, L., Siviero, P., Esposito, C., Castaldo, D., Siano, F., & Laratta, B. (2006). Assessment of agronomic, chemical and genetic variability in common basil (*Ocimum basilicum* L.). *European Food Research and Technology*, 223(2), 273
- El-Hariri, D. M., Sadak, M. S. and El-Bassiouny, H. M. S. (2010) Response of flux cultivars to ascorbic acid and α -tocopherol under salinity stress condition. *International Journal of Academic Research* 2(6): 101-109
- Elhindi, K. M., El-Din, A. S., & Elgorban, A. M. (2017). The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Saudi journal of biological sciences*, 24(1), 170-179.
- Ergin, s., Aydogan, c., Ozturk, n., & Turhan, e. (2014). Effects of ascorbic acid application in strawberry plants during heat stress. *Türk tarım ve doğa bilimleri dergisi*, 1(özel sayı-2), 1486-1491
- Farjam, S., Kazemi-Arbat, H., Siosemardeh, A., Yarnia, M., & Rokhzadi, A. (2015). Effects of salicylic and ascorbic acid applications on growth, yield, water use efficiency and some physiological traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under reduced irrigation. *Legume Research-An International Journal*, 38(1), 66
- Gregorich, E. G., Beare, M. H., McKim, U. F., & Skjemstad, J. O. (2006). Chemical and biological characteristics of physically uncomplexed organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 70(3), 975-985..
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J Microb Biochem Technol*, 7(2), 096-102.
- Jayne, B., & Quigley, M. (2014). Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 24(2), 109-119.
- Mohammadi, n., Baghizadeh, a., & Rajaei, p. (2015). Effect of β -amino butyric acid (baba) on relative leaf water content, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in rapeseed (*brassica napus* l.) Plants under drought stress.



- Olle, M., Ngouajio, M., & Siomos, A. (2012). Vegetable quality and productivity as influenced by growing medium: a review. *Agriculture*, 99(4), 399-408.
- Raghavendra, M. P., Nayaka, S. C., & Nuthan, B. R. (2016). Role of rhizosphere microflora in potassium solubilization. In *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture* (pp. 43-59). Springer, New Delhi
- Shengjie ,H., Z. Jiang and D. Mingyu.(2008). Simultaneous determination of gibberelic acid , Indol-3-acetic acid and abscisic acid in wheat extract by solid-phase extraction and liquid chromatography-Talanta.76:798-802.
- Sirousmehr, A., Arbabi, J., & Asgharipour, M. R. (2014). Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Adv. Environ. Biol*, 8(4), 880-885.
- Taha, R. S., Alharby, H. F., Bamagoos, A. A., Medani, R. A., & Rady, M. M. (2020). Elevating tolerance of drought stress in *Ocimum basilicum* using pollen grains extract; a natural biostimulant by regulation of plant performance and antioxidant defense system. *South African Journal of Botany*, 128, 42-53.
- Wang, X., Peng, F., Li, M., Yang, L., & Li, G. (2012). Expression of a heterologous SnRK1 in tomato increases carbon assimilation, nitrogen uptake and modifies fruit development. *Journal of plant physiology*, 169(12), 1173-1182.
- Zhao ZG, Chen GC, Zhou WJ (2008) Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. *Biol Plant* 52(3):592–596
- Zhu, X. C., Song, F. B., Liu, S. Q., Liu, T. D., & Zhou, X. (2012). Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant, Soil and Environment*, 58(4), 186-191.
- Zuccarini, P. (2008). Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. *Biologia Plantarum*, 52(1), 157-160..