

## تأثیر تنش خشکی و مقادیر کود نیتروژنه بر میزان و عملکرد اسانس و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

احمد افکاری<sup>\*۱</sup>

\*۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کلیبر، دانشگاه آزاد اسلامی، کلیبر، ایران

پست الکترونیک: afkariahmad@yahoo.com

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۶

### چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی و نیتروژن بر میزان و عملکرد اسانس و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، آزمایشی به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل در سال ۱۳۹۲ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش خشکی (۷۰، ۱۴۰ و ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) و کود نیتروژن در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که تأثیر تیمار تنش خشکی بر تمامی ویژگی‌های مورد بررسی معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که برهم‌کنش تنش خشکی و کود نیتروژن بر ویژگی‌های کلروفیل a، کلروفیل کل، محتوای نسبی آب، عملکرد ماده خشک و عملکرد اسانس معنی‌دار بود. همچنین کودی سبب افزایش معنی‌دار ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد ماده خشک گیاه گردید. نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارها مشخص کرد که بیشترین میزان کلروفیل a (۲/۶۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کلروفیل کل (۳/۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، محتوای نسبی آب (۷۲/۰۲٪)، عملکرد ماده خشک (۲۲۶۱/۲۵ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد اسانس (۷/۲۱ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار بدون تنش و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود نیتروژنه در هکتار، بیشترین میزان کربوهیدرات (۳/۴۱ میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر) و پرولین (۰/۶۸۱ میکرومول در گرم وزن تر) مربوط به تیمار تنش شدید بود. با بالا رفتن سطح تنش خشکی از میزان کلروفیل a، b، کل، کاروتنوئید، محتوای نسبی آب، درصد و عملکرد اسانس کاسته و بر میزان کربوهیدرات و پرولین افزوده شد. بنابراین، آبیاری ۷۰ میلی‌متر تبخیر و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود نیتروژنه در هکتار به‌عنوان تیمار برتر برای دستیابی به بالاترین میزان کلروفیل a، کلروفیل کل، محتوای نسبی آب، عملکرد ماده خشک و عملکرد اسانس ریحان توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، کلروفیل، اسانس، ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، کود، کربوهیدرات.

### مقدمه

شدن طحال و همچنین کمک به هضم غذا استفاده می‌شود. اسانس ریحان خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی داشته و در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز کاربرد دارد (Mohammadkhani & Heidari, 2007).

گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از خانواده نعناعیان، گیاهی یک‌ساله و علفی است که از این گیاه برای معالجه نفخ شکم، برخی بیماری‌های قلبی، بزرگ

تنش خشکی زمانی در گیاهان ایجاد می‌گردد که میزان آب دریافتی کمتر از تلفات آن بوده، این امر ممکن است به علت اتلاف بیش از حد آب یا کاهش جذب و یا وجود هر دو مورد باشد (Afkari, 2014). تنش خشکی رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. غلظت‌های پایین رنگدانه‌های فتوسنتزی به‌طور مستقیم می‌تواند باعث کاهش قابلیت فتوسنتز شده و تولید اولیه را محدود سازد (Dashti et al., 2015). در طی بروز تنش خشکی، گیاهان با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی همانند اسیدهای آمینه، قندها، برخی از یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها سعی در مقابله با تنش دارند. در میان ترکیب‌های آلی، پرولین یکی از مهمترین تنظیم‌کننده‌های اسمزی به‌شمار می‌رود (Prasad et al., 2004). تنش‌های رطوبتی با تغذیه گیاهان بسیار مرتبط است. یکی از مهمترین تأثیرات منفی تنش خشکی، کاهش دسترسی و جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه است (Mohammadi et al., 2016). در بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد و ترکیب اسانس مرزه (*Satureja hortensis* L.) گزارش شده‌است که تجمع اسانس در شرایط خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Baher et al., 2002).

کود نیتروژنه موجب افزایش عملکرد شاخ و برگ در گیاه ریحان می‌شود (Arabaci & Bayram, 2004). در تحقیقی که روی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Ocimum basilicum* L.) انجام شد، مشخص گردید که به‌جای مصرف مداوم کود شیمیایی می‌توان با استفاده بهینه از کودهای آلی در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی در تولید گیاه دارویی همیشه‌بهار گام برداشت (Eslami Khalili et al., 2014). همچنین تأثیر کاربرد کودهای زیستی همراه سوپرجاذب بر افزایش بازده اسانس گیاه دارویی ریحان گزارش شده است (Shahhosseini et al., 2012). نتایج تحقیقات محققان بیانگر آن است که مصرف کود ریزمغذی روی مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی مانند خشکی را افزایش می‌دهد و باعث کاهش اثرات سوء تنش خشکی در گیاهان می‌شود

(Movahhedy-Dehnavy et al., 2009). نیتروژن در تشکیل بسیاری از ترکیب‌های آلی گیاهی نقش داشته و تأثیر نیتروژن بر رشد گیاه به دلیل اثرات مثبت نیتروژن بر فعالیت فتوسنتزی و فرایندهای متابولیکی ترکیب‌های آلی در گیاه و تقویت رشد رویشی گیاه می‌باشد (El-Gendy et al., 2015). در تحقیقی اثر میزان بذر مصرفی بر عملکرد، درصد اسانس و درصد کامازولن بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) اصلاح شده رقم پرسو نشان داد که بیشترین میزان اسانس، کامازولن و عملکرد اسانس به ترتیب (۶۳٪، ۰/۹۷٪ و ۵/۹ گرم در مترمربع) از مصرف ۰/۴ گرم بذر بدست آمد (Ghaedi Jashni & Musavi, 2015). پرولین سبب تنظیم فشار اسمزی و کاهش از دست دادن آب از سلول و نگهداری آماس می‌شود. نتایج بررسی بر روی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) نشان داد که میزان پرولین در شرایط تنش در برگ‌ها و به‌ویژه در ریشه‌ها افزایش می‌یابد. در صورتی‌که میزان فعالیت آنزیم پرولین دی‌هیدروژناز در ریشه و برگ‌های این گیاه در طی اعمال تنش آبی کاهش یافت (Arazmjo et al., 2010). در مورد گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، تنش خشکی نه تنها سبب کاهش عملکرد دانه شد، بلکه در طول دوره تنش با افزایش فعالیت گاما-گلوتامیل کیناز میزان پرولین در برگ‌های آن افزایش یافت (Manavian et al., 2007). در تحقیقی روی گیاه دارویی بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) در طی اعمال خشکی با تیمارهای ۱۰۰٪، ۶۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی، بیشترین میزان پرولین و کاهش رشد در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی حاصل شد (Kheirandish et al., 2016).

از آنجا که تعیین نیازهای واقعی کودی گیاه با استفاده از کودهای شیمیایی نسبت به کودهای آلی و ارگانیک دقیق‌تر و به واقعیت نزدیکتر است، از کود نیتروژن خالص برای تعیین نیاز واقعی این گیاه به نیتروژن استفاده گردید. بنابراین هدف از اجرای این پژوهش، بررسی تأثیر مقادیر کود نیتروژنه و همچنین تأثیر توأم آنها بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، عملکرد ماده خشک گیاه، تغییرات درصد و

تنش خشکی زمانی در گیاهان ایجاد می‌گردد که میزان آب دریافتی کمتر از تلفات آن بوده، این امر ممکن است به علت اتلاف بیش از حد آب یا کاهش جذب و یا وجود هر دو مورد باشد (Afkari, 2014). تنش خشکی رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. غلظت‌های پایین رنگدانه‌های فتوسنتزی به‌طور مستقیم می‌تواند باعث کاهش قابلیت فتوسنتز شده و تولید اولیه را محدود سازد (Dashti et al., 2015). در طی بروز تنش خشکی، گیاهان با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی همانند اسیدهای آمینه، قندها، برخی از یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها سعی در مقابله با تنش دارند. در میان ترکیب‌های آلی، پرولین یکی از مهمترین تنظیم‌کننده‌های اسمزی به‌شمار می‌رود (Prasad et al., 2004). تنش‌های رطوبتی با تغذیه گیاهان بسیار مرتبط است. یکی از مهمترین تأثیرات منفی تنش خشکی، کاهش دسترسی و جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه است (Mohammadi et al., 2016). در بررسی اثر تنش خشکی بر عملکرد و ترکیب اسانس مرزه (*Satureja hortensis* L.) گزارش شده‌است که تجمع اسانس در شرایط خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Baher et al., 2002).

کود نیتروژنه موجب افزایش عملکرد شاخ و برگ در گیاه ریحان می‌شود (Arabaci & Bayram, 2004). در تحقیقی که روی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Ocimum basilicum* L.) انجام شد، مشخص گردید که به‌جای مصرف مداوم کود شیمیایی می‌توان با استفاده بهینه از کودهای آلی در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی در تولید گیاه دارویی همیشه‌بهار گام برداشت (Eslami Khalili et al., 2014). همچنین تأثیر کاربرد کودهای زیستی همراه سوپرجاذب بر افزایش بازده اسانس گیاه دارویی ریحان گزارش شده است (Shahhosseini et al., 2012). نتایج تحقیقات محققان بیانگر آن است که مصرف کود ریزمغذی روی مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی مانند خشکی را افزایش می‌دهد و باعث کاهش اثرات سوء تنش خشکی در گیاهان می‌شود

منجر به توصیه کودی مناسبی برای کشاورزان در وضعیت محدودیت رطوبت شود.

عملکرد اسانس و ارزیابی پاسخ‌های گیاه دارویی ریحان در وضعیت تنش خشکی است. نتایج این آزمایش می‌تواند

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی در منطقه اردبیل

| عمق نمونه برداری (cm) | هدایت الکتریکی (ds/m) | pH  | کربن آلی (%) | ازت کل (%) | فسفر (mg/kg) | پتاسیم (mg/kg) | رس (%) | سیلت (%) | شن (%) |
|-----------------------|-----------------------|-----|--------------|------------|--------------|----------------|--------|----------|--------|
| ۱۵-۳۰                 | ۲/۵۹                  | ۶/۷ | ۰/۳۲         | ۰/۴۰       | ۱۳           | ۲۵۲            | ۲۴     | ۶۱       | ۳۳     |

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تیمارهای تنش خشکی و نیتروژن برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان، پژوهشی در سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل با ارتفاع حدود ۱۳۵۰ متر، عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه شرقی و متوسط بارندگی سالیانه ۳۰۰-۲۸۰ میلی‌متر انجام شد.

آزمایش به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش کمبود آب در سه سطح  $D_1$  (آبیاری نرمال بدون تنش)،  $D_2$  (آبیاری با تنش متوسط) و  $D_3$  (آبیاری با تنش خشکی) براساس سطح تبخیر از تشتک کلاس A، به ترتیب ۷۰، ۱۴۰ و ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر به‌عنوان فاکتور اصلی و سطوح مختلف کود نیتروژن در سه سطح ( $N_1=0$ ،  $N_2=50$  و  $N_3=100$  کیلوگرم در هکتار) از منبع اوره به‌عنوان فاکتور فرعی بود. اندازه هر کرت  $4 \times 2$  متر، فاصله بین کرت‌ها ۰/۵ متر و فاصله بین بلوک‌ها دو متر در نظر گرفته شد. قبل از اجرای طرح براساس نتایج تجزیه شیمیایی خاک (جدول ۱)، کود فسفره  $P_2O_5$  به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات‌تریپل و کود پتاس به میزان ۵۰ کیلوگرم از منبع سولفات پتاسیم ( $K_2SO_4$ ) مصرف و با خاک مخلوط شدند. همچنین یک سوم کود نیتروژن نیز متناسب با تیمار کودی طرح، همزمان با کاشت در کرت‌های فرعی پخش و در عمق مناسب خاک قرار داده شد. کاشت در نیمه اول اردیبهشت ۱۳۹۲ به روش دستی انجام شد. در درون هر کرت فاصله بین

ردیف‌ها از یکدیگر ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای اعمال تیمار خشکی، ۱۰ روز بعد از جوانه‌زنی و استقرار کامل گیاهچه‌ها در سطح خاک با استفاده از دستگاه TDR (Time Domain Reflectometry) میزان رطوبت خاک تعیین و آبیاری براساس تیمارهای آزمایش در کل دوره رشد انجام شد. در این پژوهش صفاتی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، محتوای نسبی آب برگ، عملکرد خشک گیاه، درصد و عملکرد اسانس، کربوهیدرات‌ها و پرولین در مرحله گلدهی کامل اقدام به برداشت نمونه برای اسانس‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ابتدا ۰/۲ گرم بافت سبز به همراه ۱۰ cc الکل اتانول ۹۵٪ (یا ۵ cc اتانول ۹۶٪) را در لوله‌های آزمایش در بسته قرار داده و به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و پس از سرد شدن، ۱ cc از نمونه را برداشته و به آن ۱ cc فنل ۰/۵٪ و ۵ cc اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه گردید. میزان نور جذبی در ۴۸۳ نانومتر در اسپکتوفتومتری یادداشت و میزان کربوهیدرات استخراجی براساس میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر از جدول استاندارد استخراج شد (Irigoyen et al., 1992). برای اندازه‌گیری پرولین برگ، ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ تر در ۱۰ میلی‌متر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ به‌وسیله هاون هموژن شده و عصاره حاصل صاف گردید. ۲ میلی‌لیتر اسید استیک و ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین به ۲ میلی‌متر از عصاره صاف شده فوق اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در حمام آب و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها در تولوئن با استفاده از

آب، اسانس ریحان روی آب قرار می‌گرفت. اندازه‌گیری اسانس به روش حجمی و در لوله مدرج انجام شد (Roosta & Arabpour, 2013). برای اندازه‌گیری محتوای رنگدانه‌های کلروفیل، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ در هاون چینی ساییده شد و محلول حاصل به مدت پنج دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ اندازه‌گیری گردید. سپس جذب محلول رویی در طول موج‌های ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد. میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر برگ با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شدند (Dere et al., 1998):

$$\text{Chlorophyll}_a = 15.65A_{666} - 7.340A_{653}$$

$$\text{Chlorophyll}_b = 27.05A_{653} - 11.21A_{666}$$

$$\text{Chlorophyll}_T = \text{Chlorophyll}_a + \text{Chlorophyll}_b$$

$$\text{Carotenoid} = [(4.785A_{470} + 3.657A_{663.2} - 12.76A_{646.8}) \times 8.1] / \text{FW}$$

$$\text{RWC} = \frac{(\text{Fw} - \text{Dw})}{(\text{Sw} - \text{Dw})} \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

که در آن Fw: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، Dw: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آن و Sw: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر می‌باشد. در نهایت تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و Excel و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

## نتایج

محتوای کلروفیل و کاروتنوئید نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح تنش خشکی و نیتروژن بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در سطح ۵٪ و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و نیتروژن بر روی کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح ۵٪ معنی‌دار بودند، اما بر روی کلروفیل b و کاروتنوئید تأثیر معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates et al., 1973). استخراج و اندازه‌گیری اسانس پیکر رویشی به روش تقطیر با آب و به‌وسیله دستگاه کلونجر (Clevenger) انجام شد. پس از قرار دادن گیاه به همراه آب درون بالن، دستگاه نصب و روشن شد. اسانس همراه با بخار آب در قسمت سردکننده جمع و در سردکن عمل میعان انجام شده و قطرات اسانس درون آب به صورت دو فاز مشخص به طرف لوله مدرج حرکت می‌کرد. به‌علت سبک‌تر بودن اسانس نسبت به

$A_{666}$  = مقدار جذب در طول موج ۶۶۶ نانومتر،  
 $A_{653}$  = مقدار جذب در طول موج ۶۵۳ نانومتر،  
 $A_{470}$  = مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر،  
 $A_{663.2}$  = مقدار جذب در طول موج ۶۶۳/۲ نانومتر،  
 $A_{646.8}$  = مقدار جذب در طول موج ۶۴۶/۸ نانومتر و  
 FW = وزن تازه برگ.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب از برگ تمامی تیمارهای آزمایش نمونه‌برداری شده و بلافاصله روی یخ قرار گرفته و وزن تر آنها با استفاده از ترازوی دیجیتالی دارای دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری گردید. سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در سردخانه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از آن وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و وزن خشک هریک از آنها اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین درصد محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (Salati-Momeni & Afkari, 2016).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده ریحان تحت تأثیر تنش خشکی و کود نیتروژنه

| منابع تغییر      | درجه آزادی | میانگین مربعات |           |            |            |
|------------------|------------|----------------|-----------|------------|------------|
|                  |            | کلروفیل a      | کلروفیل b | کلروفیل کل | کاروتنوئید |
| تکرار            | ۲          | ۰/۰۰۳ns        | ۰/۰۰۴ns   | ۰/۰۲ns     | ۰/۷۸ns     |
| تنش خشکی         | ۲          | ۰/۰۰۴*         | ۰/۰۰۷*    | ۰/۱۳*      | ۰/۹۷*      |
| اشتباه اصلی      | ۴          | ۰/۳۴۴          | ۰/۵۲۱     | ۱/۶۵۴      | ۰/۳۶۷      |
| کود نیتروژن      | ۲          | ۰/۰۹*          | ۰/۰۰۸*    | ۰/۰۶*      | ۰/۱۷*      |
| خشکی × کود       | ۴          | ۰/۰۱۷۴*        | ۰/۰۳ns    | ۰/۰۸*      | ۰/۰۶ns     |
| اشتباه فرعی      | ۱۲         | ۰/۰۰۱          | ۰/۰۰۴     | ۰/۰۲       | ۰/۰۱       |
| ضریب تغییرات (%) |            | ۱۰/۳۱          | ۱۴/۶۷     | ۱۲/۵۸      | ۱۰/۲       |

\*، \*\*، \*\*\*: به ترتیب معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪، ns: غیر معنی دار

میانگین ۲/۶۵ و ۳/۴۲ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار  $N_3D_1$  (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در آبیاری نرمال بدون تنش) و کمترین مقدار کلروفیل a و کل به ترتیب با میانگین ۱/۳۲۸ و ۱/۸۲۸ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار  $N_1D_3$  (عدم استفاده از کود نیتروژن در آبیاری با تنش خشکی) بدست آمد (جدول ۶).

#### محتوای نسبی آب

بر اساس جدول تجزیه واریانس، تیمارهای آبیاری، کود و اثرات متقابل تیمارهای تنش خشکی و کود نیتروژن بر صفت محتوای نسبی آب در سطح ۵٪ معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر برهم کنش تنش خشکی و نیتروژن بر محتوای نسبی آب نشان داد که شرایط تنش خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ به دلیل کاهش قابلیت آب برگ می گردد. بنابراین بیشترین محتوای نسبی آب با میانگین ۷۲/۰۲٪ از تیمار  $N_3D_1$  (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در آبیاری نرمال بدون تنش) و کمترین مقدار محتوای نسبی آب با میانگین ۶۱/۳٪ از تیمار  $N_1D_3$  (عدم استفاده از کود نیتروژن در آبیاری با تنش خشکی) بدست آمد (جدول ۶).

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر کلروفیل b و کاروتنوئید نشان داد که بالاترین مقادیر کلروفیل b و کاروتنوئید به ترتیب با میانگین ۰/۸۳۱ و ۰/۵۱۹ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار  $D_1$  (آبیاری نرمال بدون تنش) و کمترین مقادیر کلروفیل b و کاروتنوئید به ترتیب با میانگین ۰/۴۵۲ و ۰/۲۸۲ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار  $D_3$  (آبیاری با تنش خشکی) بدست آمد (جدول ۳). نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از کود نیتروژن نسبت به شاهد به طور معنی داری مقادیر کلروفیل a، b و کاروتنوئید را افزایش داد. در این میان بالاترین مقادیر کلروفیل b و کاروتنوئید به ترتیب با میانگین ۰/۷۲۳ و ۰/۶۰۲ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار  $N_3$  (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن) و کمترین مقادیر کلروفیل b و کاروتنوئید به ترتیب با میانگین ۰/۳۴۲ و ۰/۲۸۵ میلی گرم در گرم وزن تر از تیمار  $N_1$  (عدم استفاده از کود نیتروژن) بدست آمد (جدول ۴). در این آزمایش با کاهش آب قابل استفاده و به تبع آن بروز تنش خشکی، از میزان کلروفیل a و کل در بافت سبز برگ گیاه ریحان کاسته شد. مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای کودی و تنش خشکی نشان داد که بالاترین مقدار کلروفیل a و کل به ترتیب با

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده ریحان تحت تأثیر تنش خشکی

| کاروتنوئید               | درصد  | پرولین                   | کربوهیدرات                     | کلروفیل b                | تیماز                                |
|--------------------------|-------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| (میکروگرم در گرم وزن تر) | (%)   | (میکرومول در گرم وزن تر) | (میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر) | (میکروگرم در گرم وزن تر) |                                      |
| ۰/۵۱۹a                   | ۱/۵۷a | ۰/۰۷۶۳b                  | ۱/۴۹۲c                         | ۰/۸۳۱a                   | D <sub>1</sub> : آبیاری نرمال        |
| ۰/۴۹۸a                   | ۱/۵۳a | ۰/۶۶۱۱a                  | ۲/۴۸۳b                         | ۰/۷۹۷a                   | D <sub>2</sub> : آبیاری با تنش متوسط |
| ۰/۲۸۲b                   | ۱/۱۴b | ۰/۶۸۰۹a                  | ۳/۴۰۷a                         | ۰/۴۵۲b                   | D <sub>3</sub> : آبیاری با تنش شدید  |

حروف مشترک در هر ستون حکایت از عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارد.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده ریحان تحت تأثیر نیتروژن

| کاروتنوئید               | درصد  | پرولین                   | کربوهیدرات                     | کلروفیل b                | تیماز                                   |
|--------------------------|-------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|---|
| (میکروگرم در گرم وزن تر) | (%)   | (میکرومول در گرم وزن تر) | (میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر) | (میکروگرم در گرم وزن تر) |   |
| ۰/۲۸۵b                   | ۱/۴۳b | ۰/۱۶۸۹b                  | ۱/۲۸۴c                         | ۰/۳۴۲c                   | N <sub>1</sub> : عدم استفاده از نیتروژن |
| ۰/۴۱۲ab                  | ۱/۷۹a | ۰/۱۷۲۸a                  | ۲/۳۸۷b                         | ۰/۴۹۴b                   | N <sub>2</sub> : ۵۰ کیلوگرم در هکتار    |
| ۰/۶۰۲a                   | ۱/۹۱a | ۰/۱۹۴۵a                  | ۳/۲۵۶a                         | ۰/۷۲۳a                   | N <sub>3</sub> : ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار   |

حروف مشترک در هر ستون حکایت از عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارد.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده ریحان تحت تأثیر تنش خشکی و کود نیتروژنه

| میانگین مربعات |         |        |            | درجه آزادی      | منابع تغییر      |
|----------------|---------|--------|------------|-----------------|------------------|
| عملکرد         | درصد    | پرولین | کربوهیدرات | عملکرد ماده خشک |                  |
| اسانس          | اسانس   |        |            |                 | تکرار            |
| ۵۱/۶۹ns        | ۰/۲۴ns  | ۰/۷۴ns | ۰/۳۶۱ns    | ۱۸۹/۷۶ns        | ۲                |
| ۳۳/۹۵**        | ۰/۰۸۱*  | ۳/۷۹** | ۴۸/۱۳**    | ۳۳۶۷۱/۴۱**      | ۲                |
| ۰/۰۳           | ۰/۰۰۶   | ۰/۱۷۰۶ | ۰/۴۳۱      | ۲۷/۸۸           | ۴                |
| ۱۱/۲۷ns        | ۰/۱۴ns  | ۰/۲۱۶* | ۱/۸۷*      | ۲۶۵۳۱/۸۲**      | ۲                |
| ۳/۲۱۷**        | ۰/۰۱۴ns | ۰/۳۲ns | ۰/۲۶۹ns    | ۴۹۸۰/۹۳*        | ۴                |
| ۰/۰۷           | ۰/۰۰۵۱  | ۰/۰۴۶۹ | ۰/۳۹       | ۹۱/۷۴           | ۱۲               |
| ۱۴/۳۸          | ۱۳/۴۱   | ۱۴/۹۲  | ۱۳/۰۸      | ۹/۳۱            | ضریب تغییرات (%) |

ns: غیر معنی‌دار، \*، \*\*، \*\*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪، ns: غیر معنی‌دار

## کربوهیدرات و پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس در این آزمایش نشان داد که تنش خشکی و کود نیتروژن به ترتیب تأثیر معنی داری در سطح ۱٪ و ۵٪ بر میزان تجمع دو تنظیم کننده اسمزی (کربوهیدرات و پرولین) در گیاه ریحان داشت، اما اثر متقابل خشکی و تیمار کودی تأثیر معنی داری بر مقدار کربوهیدرات و پرولین نداشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر کربوهیدرات و پرولین نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی از ۷۰ میلی متر تبخیر به ۲۱۰ میلی متر تبخیر بر میزان تجمع کربوهیدرات و پرولین در بافت سبز برگ افزوده شد. بنابراین بیشترین میزان کربوهیدرات و پرولین به ترتیب با میانگین (۳/۴۱ میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر و ۰/۶۸۱ میکرومول در گرم وزن تر) از تیمار آبیاری ۲۱۰ میلی متر تبخیر یا تنش خشکی و کمترین مقدار کربوهیدرات و پرولین با میانگین (۱/۴۹ میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر و ۰/۰۷۶ میکرومول در گرم وزن تر) از تیمار آبیاری نرمال بدون تنش بدست آمد (جدول ۳). استفاده از تیمار کودی در این آزمایش تأثیر معنی داری بر تمامی فاکتورهای فیزیولوژیک مورد مطالعه بجز درصد و عملکرد اسانس داشت و سبب افزایش آنها شد.

## عملکرد ماده خشک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح تنش خشکی، نیتروژن و اثر متقابل آنها بر عملکرد ماده خشک در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۵). مقایسه میانگین برهم کنش تنش خشکی و نیتروژن بر عملکرد ماده خشک نشان داد که شرایط تنش خشکی سبب کاهش عملکرد ماده خشک گردید. تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص با سطح آبیاری نرمال بدون تنش، بیشترین میانگین عملکرد ماده خشک برابر ۲۲۶۱/۲۵ کیلوگرم در هکتار را تولید کرد. کمترین میانگین عملکرد ماده خشک با سطح تنش شدید و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن

خالص برابر ۱۳۸۱/۶۷ کیلوگرم را در هکتار تولید کرد (جدول ۶).

## درصد و عملکرد اسانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس در این آزمایش (جدول ۵) نشان داد که تنش خشکی بر روی صفات درصد و عملکرد اسانس به ترتیب در سطح ۵٪ و ۱٪ معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر درصد اسانس نشان داد که بالاترین مقدار درصد اسانس با میانگین (۱/۵۷٪) از تیمار  $D_1$  (آبیاری نرمال بدون تنش) و کمترین مقدار درصد اسانس با میانگین (۱/۱۴٪) از تیمار  $D_3$  (آبیاری با تنش خشکی) بدست آمد (جدول ۳). نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که با تشدید تنش آبی عملکرد اسانس کاهش یافت. با توجه به نتایج، عملکرد اسانس بیشتر تحت تأثیر عملکرد ماده خشک بوده و کمتر متأثر از تغییرات درصد اسانس بود. کاهش عملکرد اسانس در نتیجه کاهش رطوبت خاک ممکن است ناشی از اثر زیان آور تنش آبی بر رشد و عملکرد پیکر رویشی گیاه باشد. البته استفاده از تیمار کودی در این آزمایش تأثیر معنی داری بر روی صفات درصد و عملکرد اسانس نداشت (جدول ۵). هر چند اثر برهم کنش تیمارهای کودی و تنش خشکی بر عملکرد اسانس تأثیر معنی داری در سطح ۱٪ داشت، اما اثر متقابل خشکی و تیمار کودی تأثیر معنی داری بر درصد اسانس نداشت (جدول ۵). در این میان بیشترین عملکرد اسانس (۷/۲۱ کیلوگرم در هکتار) از تیمار  $N_3D_1$  (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در آبیاری نرمال بدون تنش) و کمترین عملکرد اسانس (۵/۳۲ کیلوگرم در هکتار) از تیمار  $N_1D_3$  (عدم استفاده از کود نیتروژن در آبیاری با تنش خشکی) بدست آمد (جدول ۶). اثر متقابل تنش خشکی و تیمار کودی در این آزمایش نشان داد که در زمان نبود تنش خشکی (تیمار شاهد)، کود شیمیایی بیشترین تأثیر را بر درصد و عملکرد اسانس داشت.

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین برهم کنش صفات اندازه گیری شده ریحان تحت تأثیر تنش خشکی و نیتروژن

| تنش خشکی                   | نیتروژن<br>(کیلوگرم در هکتار) | کلروفیل a<br>(میکروگرم در گرم وزن تر) | کلروفیل کل<br>(میکروگرم در گرم وزن تر) | محتوای<br>نسبی آب<br>(%) | عملکرد اسانس<br>(کیلوگرم در هکتار) | عملکرد ماده خشک<br>(کیلوگرم در هکتار) |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|--|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
|                            | ۰                             | ۲/۱۸۶ab                               | ۲/۸۲۱b                                 | ۶۶/۴۱c                   | ۶/۶۱ab                             | ۱۹۹۴/۷۹b                              |
| D <sub>1</sub> : بدون تنش  | ۵۰                            | ۲/۴۵۱a                                | ۳/۱۰۵a                                 | ۷۰a                      | ۶/۸۳a                              | ۲۰۷۳/۲۳b                              |
|                            | ۱۰۰                           | ۲/۶۵۱a                                | ۳/۴۲۵a                                 | ۷۲/۰۲a                   | ۷/۲۱a                              | ۲۲۶۱/۲۵a                              |
|                            | ۰                             | ۱/۷۷۶a                                | ۱/۳۸۲e                                 | ۶۴/۸۶cd                  | ۵/۹۹b                              | ۱۶۶۹/۴۰c                              |
| D <sub>2</sub> : تنش متوسط | ۵۰                            | ۲/۰۴۱b                                | ۲/۶۸۴bc                                | ۶۸/۴۶b                   | ۶/۲۱b                              | ۱۹۹۵/۲۴b                              |
|                            | ۱۰۰                           | ۲/۲۴۱ab                               | ۲/۹۹۹ab                                | ۷۰/۵۲a                   | ۶/۵۸ab                             | ۱۶۱۶/۶۱c                              |
|                            | ۰                             | ۱/۳۲۸d                                | ۱/۸۲۸de                                | ۵۷/۱۳de                  | ۵/۲۷cd                             | ۱۵۹۰/۰۱cd                             |
| D <sub>3</sub> : تنش شدید  | ۵۰                            | ۱/۶۴۷cd                               | ۲/۱۱۸d                                 | ۶۱/۳۳d                   | ۵/۵۴c                              | ۱۵۱۴/۸۹d                              |
|                            | ۱۰۰                           | ۱/۸۴۷c                                | ۲/۴۳۳c                                 | ۶۳/۳۵cd                  | ۵/۹۲b                              | ۱۳۲۸/۴۶e                              |

حروف مشترک در هر ستون حکایت از عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارد.

## بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از تیمار آبیاری نرمال بدون تنش (۷۰ میلی متر تبخیر) به طرف تیمار آبیاری با تنش خشکی (۲۱۰ میلی متر تبخیر) از میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید کاسته و در مقابل بر مقادیر تنظیم کننده های اسمزی (کربوهیدرات های محلول و پرولین) افزوده می شود (جدول های ۳ و ۶). محتوای کاروتنوئیدهای برگ با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت، اما بیشترین و کمترین آن به ترتیب در شرایط آبیاری نرمال و تنش شدید خشکی مشاهده شد. مصرف کود نیتروژن نیز محتوای کاروتنوئیدهای برگ را افزایش داد، به طوری که تیمارهای کودی ۱۰۰ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار به طور معنی داری باعث افزایش محتوای کاروتنوئیدها نسبت به تیمار شاهد شدند (جدول ۴). این نتایج در راستای نتایج محققانی مانند Zand و همکاران (۲۰۱۷)، Sudabeh و همکاران (۲۰۱۴)، Safikhani و همکاران (۲۰۰۷) می باشد. عنصر نیتروژن علاوه بر شرکت در ساختار اسیدهای آمینه و آنزیم ها، یکی از عناصر اصلی تشکیل دهنده حلقه تتراپیرول

کلروفیل می باشد. به علاوه افزایش این عنصر در گیاه از یک سو سبب افزایش میزان آمونیم و از سوی دیگر افزایش آنزیم های گلوتامات سنتتاز و گلوتامین سنتتاز دخیل در تولید کلروفیل شده و باعث افزایش میزان آن در گیاه می شود (Boyrideh Sheikh *et al.*, 2016). تولید گونه های اکسیژن فعال تحت برخی تنش های محیطی از جمله تنش خشکی تحریک می شود (Sharma & Dubey, 2005). عمدتاً کاهش کلروفیل تحت تنش خشکی، در نتیجه آسیب به کلروپلاست به وسیله گونه های اکسیژن فعال (Smirnoff, 1998)، به دلیل جلوگیری از سنتز این رنگیزه، یا تخریب رنگیزه و همچنین آسیب به کلروپلاست ها (Sharma & Dubey, 2005) می باشد. Zand و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثر تنش خشکی و کودهای زیستی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، درصد و عملکرد اسانس در نعنای گزارش کردند که با افزایش میزان تنش خشکی، مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل از یک روند کاهشی پیروی کرد. کاهش محتوای کلروفیل در اثر تنش غرقابی در گندم (Collaku & Harrison, 2002) و گشنیز (Sudabeh



نیترژن در مقایسه با سایر مقادیر کود نیترژن توانسته بهتر عمل کند و این تیمار کودی از میزان پرولین بیشتری برخوردار می‌باشد، اما اثر متقابل خشکی و تیمار کودی تأثیر معنی‌داری بر مقدار پرولین نداشت (جدول ۵).

محتوای نسبی آب برگ همبستگی زیادی با قابلیت آب برگ دارد و کاهش محتوای نسبی آب برگ منجر به بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و در مقادیر شدید منجر به توقف انتقال الکترون، ممانعت نوری و تخریب غشاء می‌شود (Kamali et al., 2015). مصرف نیترژن موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ گردید که بیشترین آن در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن مشاهده شد، که با تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن تفاوت معنی‌داری نداشت (Mohammadzadeh et al., 2012). عدم تعادل بین عرضه و تقاضای آب در گیاه محتمل‌ترین دلیل کاهش محتوای نسبی آب برگ گیاه در شرایط تنش خشکی می‌باشد. به عبارتی در شرایط تنش خشکی ریشه‌ها قادر به تأمین آب از دست رفته از طریق تعرق نبوده، در نتیجه قابلیت آب برگ کاهش پیدا می‌کند. Kumar و Singh (۱۹۹۸) کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش خشکی را در گیاه روغنی کلزا گزارش کردند که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

نتایج این آزمایش نشان داد که با کاهش آب مورد نیاز گیاه از میزان اسانس گیاه کاسته شد. Zand و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که تنش شدید خشکی سبب کاهش درصد و عملکرد اسانس به ترتیب به میزان ۱۹٪ و ۴۸٪ نسبت به رژیم آبیاری کامل گردید. همچنین گزارش کردند که کمترین درصد و عملکرد اسانس مربوط به شاهد و بیشترین آنها به ترتیب مربوط به تیمار کود زیستی و تیمار تلفیق کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی بود. Heidari و Jahantighi (۲۰۱۲) گزارش کردند که بیشترین درصد اسانس در سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) مربوط به تیمار قطع آبیاری در مراحل گلدهی و پر شدن دانه با مصرف ۶۰ کیلوگرم نیترژن خالص در هکتار و کمترین آن مربوط به تیمار آبیاری کامل بدون مصرف کود نیترژن بود.

(et al., 2014) گزارش شده است. در مطالعه‌ای، تنش خشکی باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه کوشیا (*Kochia scoparia*) شده، به طوری که بالا بودن میزان کلروفیل به کاهش محتوای آب سلولی در تیمارهای تنش ارتباط داده شده است (Karimian et al., 2014)؛ (Maassoumi, 2010). نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش تنش خشکی مقدار کلروفیل a, b و در نهایت مجموع رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه ریحان کاهش یافت که نشان‌دهنده حساسیت رنگدانه‌های فتوسنتزی ریحان به کمبود آب می‌باشد. کاهش میزان کلروفیل ممکن است در ارتباط با اثر تنش آب بر میزان عناصر غذایی ضروری باشد. همچنین کاهش غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش ممکن است در ارتباط با افزایش فعالیت تجزیه کلروفیل توسط آنزیم کلروفیلا (Goldani, 2012) باشد. بنابراین میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی به‌شمار می‌رود. در این حالت با توجه به شدت، مدت و مرحله رشدی، تأثیر تنش بر هر یک از مقادیر کلروفیل‌های a و b در گیاهان متفاوت خواهد بود.

در این تحقیق نیز با افزایش تنش، ساخت اسیدآمینه پرولین در گیاه افزایش یافت و بیشترین میزان آن در آبیاری با تنش شدید (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر) و تیمار کاربرد کود شیمیایی ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن مشاهده گردید، بدین معنی که گیاه با تجمع مواد تنظیم‌کننده اسمزی سعی بر مقابله با تنش داشت. تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی یکی از نشانه‌های واضح تنش‌های محیطی به‌ویژه در گیاهان تحت تنش خشکی است. از این رو به نظر می‌رسد گیاه بیشتر انرژی خود را صرف تولید پرولین و بالا بردن غلظت شیره سلولی کرده، در نتیجه میزان تولید کلروفیل و عملکرد در این تیمار کاهش یافت. پرولین ترکیبی پروتئینی با ساختار نیترژنی است که مصرف کودهای حاوی نیترژن به تولید بیشتر آن در گیاه کمک خواهد کرد (Zand et al., 2017). نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش خشکی و کود نیترژن نشان داد که در شرایط آبیاری (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر) و تیمار کاربرد کود شیمیایی ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار

عملکرد ماده خشک ریحان معمولی تطبیق دارد (Dadvand, 2008). Sarab *et al.*, 2008). Misra و Srivastava (2000) در مطالعه‌ای نشان دادند که تنش آبی باعث کاهش معنی‌دار ماده تر و خشک، مقدار ماده غذایی و عملکرد اسانس نعنای شد. Simon و همکاران (1992) بیان کردند که با تشدید تنش آبی، وزن تر و خشک ریحان کاهش یافت. Zaki و Radwan (2011) گزارش کردند که در مواجهه با تنش خشکی در گندم میزان تولید ماده خشک کاهش یافت. یافته‌های اخیر با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، می‌توان بیان کرد هر چند با بروز تنش خشکی از درصد و عملکرد اسانس گیاه ریحان کاسته شد اما با بکارگیری کود شیمیایی نیتروژنه می‌توان تا حدی از بروز اثرهای سوء تنش خشکی بر عملکرد اسانس این گیاه کاست. بنابراین با بالا رفتن سطح تنش خشکی از میزان کلروفیل a، b، کل، کاروتنوئید، محتوای نسبی آب، عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس کاسته و بر میزان تجمع کربوهیدرات و پروتئین افزوده شد. در مجموع آبیاری نرمال بدون تنش و مصرف 100 کیلوگرم کود نیتروژنه در هکتار به‌عنوان تیمار برتر برای دستیابی به بالاترین میزان کلروفیل a، کلروفیل کل، محتوای نسبی آب، عملکرد ماده خشک و عملکرد اسانس ریحان توصیه می‌گردد.

### منابع مورد استفاده

- Afkari, A., 2014. Effect of water stress on potassium accumulation and seed yield of different sunflower (*Helianthus annuus* L.) varieties. International Journal of Current Life Sciences, 4(3): 808-811.
- Alizadeh Sohrabi, A., Sharifi Ashorabadi, A.H., Shirani Rad A.R., ValadAbadi, H., Abadi Farahani, A. and Abbas Zadeh, B., 2007. Effect of methods and levels of nitrogen on essential oil yield in summer savory. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(3): 416-431.
- Arabaci, D. and Bayram, E., 2004. The Effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of

Omidbaigi (2007) گزارش کرد که مقدار اسانس تولید شده در پیکر رویشی نعنای، با مقدار رطوبت خاک رابطه مستقیم دارد؛ به همین دلیل برای تولید محصولی با کمیت و کیفیت مناسب، رطوبت خاک در طول رویش باید برابر 80٪ باشد و گیاهان از سه تا چهار هفته پس از رویش تا قبل از گلدهی به مقادیر مناسبی آب نیاز دارند و باید تحت آبیاری منظم قرار گیرند. در این تحقیق عملکرد اسانس نیز متأثر از تنش خشکی تغییر یافت و با قرار گرفتن گیاه تحت تنش متوسط و شدید خشکی، از عملکرد اسانس گیاه کاسته شد. البته اثرات نامناسب تنش خشکی در کاهش عملکرد اسانس در بادرشبو (Kheirandish *et al.*, 2016) و گشنیز (Nourzad *et al.*, 2014) نیز گزارش شده است. نتایج Alizadeh Sohrabi و همکاران (2007) در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) نشان داد که بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به ترتیب در اثر کاربرد تیمار 150 کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و تیمار عدم کاربرد نیتروژن (شاهد) بدست آمد که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. همچنین طبق گزارش‌های دیگر، میزان عملکرد اسانس در ریحان (Dadvand Sarab *et al.*, 2008)، نعنای فلفلی (Nasiri *et al.*, 2010) و بابونه (Zehtabe-Salmasi *et al.*, 2008) تحت تأثیر تیمار کود افزایش یافت. کاربرد نیتروژن در گیاهان دارویی و معطر با افزایش فتوسنتز، میزان کلروفیل، فعالیت آنزیم رایبیسکو، زیست‌توده و رشد و توسعه برگ، عملکرد اسانس را افزایش می‌دهد. البته افزایش میزان اسانس در اثر مصرف کود نیتروژن به دلیل نقش مهم نیتروژن در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس، کانال‌های اسانس، مجاری ترشچی و کرک‌های غده‌ای می‌باشد (Salehi, 2012).

عملکرد رویشی که حاصل جمع عملکرد برگ و ساقه است به شدت تحت تأثیر تنش خشکی و میزان کود نیتروژن و اثرات متقابل آنها قرار گرفت. در این رابطه بیشترین میانگین عملکرد ماده خشک در سطح آبیاری نرمال بدون تنش و 100 کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص حاصل شد که با نتایج محققان دیگر در مورد اثر این دو فاکتور بر

- the morphological characteristics and amount essential oil of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 8(1): 65-72.
- Goldani, M., 2012. Effect of irrigation intervals on some growth indices ecotypes basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Agricultural Research*, 10(2): 412-420.
  - Heidari, M. and Jahantighi, H., 2012. Effects of drought stress and nitrogen rates on grain yield, oil percentage and the amount thymoquinone of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 5(1): 33-40.
  - Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez, D.M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa*). *Plants Physiology Plantarum*, 84: 55-60.
  - Kamali, M., Shour, M., Tehranifar, A., Goldani, M. and Salahvarzi, Y., 2015. Effect of salt stress and increasing carbon dioxide on proline accumulation, carbohydrates and other morphophysiological characteristics of *Amaranthus tricolor*. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture Soilless Culture Research Center*, 5(4): 229-239.
  - Karimian, M.A., Galouvi, M., Dahmourdeh, M. and Kafi, M., 2014. Effect of drought stress and different levels of potassium fertilizer on qualitative and quantitative yield of forage kochia (*Kochia scoparia* L.). *New Findings in Agriculture*, 8(3): 239-250.
  - Kheirandish, E., Roshdi, M. and Yousefzadeh, S., 2016. Effects of water stress and nitrogen fertilizer on quantitative and qualitative characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Electronic Journal of Crop Production*, 9(1): 109-125.
  - Kumar, A. and Singh, D.P., 1998. Use of physiological indices as a screening technique for drought tolerance in oil seed *Brassica* species. *Annals of Botany*, 81: 413-420.
  - Maassoumi, A., 2010. Effect of drought stress on morpho-physiological parameters indigenous double mass of Kochia under field and greenhouse. Thesis Submitted for the Degree of Philosophy (Ph.D.) in Agronomy Department of Agronomy Faculty of Agriculture Ferdowsi Mashhad University, Mashhad.
  - Manavian, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M.A. and Panneerselvam, R., 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in (*Helianthus annuus* L.) as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2): 141-149.
  - (*Ocimum basilicum* L.). *Journal Agronomy*, 3(4): 255-262.
  - Arazmjo, A., Heidari, M. and Ghanbari, A., 2010. The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(4): 482-494.
  - Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbani, M. and Rezaii, M.B., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis*. *Flavor and Fragrance Journal*, 17: 275-277.
  - Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
  - Boyrideh Sheikh, A., Mahmoudi Sourestani, M., Zolfaghari, M. and Enayati Zamir, N., 2016. The effect of plant growth promoting rhizobacteria, chemical fertilizer and humic acid on morpho-physiological characteristics of Basil (*Ocimum basilicum* var. *thyrsoiflorum*). *Agricultural Knowledge and Sustainable Production*, 26(4): 129-142.
  - Collaku, A. and Harrison, S.A., 2002. Losses in wheat due to water logging. *Crop Science*, 42: 444-450.
  - Dadvand Sarab, M.R., Naghdibadi, H.A., Nasri, M., Makizadeh Tafti, M. and Heshmat, M., 2008. Changes the oil and the basil (*Ocimum basilicum* L.) under the influence of density and nitrogen fertilizer. *Medicinal Plants*, 3(27): 60-70.
  - Dashti, M., Kafi, M., Tavakkoli, H. and Mirza, M., 2015. The study of some morpho-physiological indices Noruzak medicinal plants under drought stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(2): 298-307.
  - Dere, S., Gunes, T. and Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll- a, b and total carotenoids contents of some algae species using different solvents. *Botany*, 22: 13-17.
  - El-Gendy, A.G., Gohary, E.I., Omer, E.A., Hendawy, S.F. and Hussein, M.S., 2015. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on herbage and oil yield of chervil plant (*Anthriscus cerefolium* L.). *Industrial Crops and Products*, 69: 167-174.
  - Eslami Khalili, F., Pyrdashty, H., Bahmanyar, M.A. and Taqavi Ghasemkhili, F., 2014. The effect of organic and chemical fertilizers on soil properties and mineral concentration in the plant marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(3): 476-485.
  - Ghaedi Jashni, M. and Musavi Nik, S.M., 2015. Effects of drought stress and phosphorus fertilizer on

- characteristics of medicinal plants *Badrashbu (Dracocephalum moldavica L.)*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(1): 86-99.
- Salati-Momeni, H. and Afkari, A., 2016. Effects of drought stress and various levels of potassium fertilizer on yield and yield component of sunflower (*Helianthus Annuus L.*) cultivar Armaviresky in Ardabil. International Journal of Advanced Biotechnology and Research, 7(3): 1761-1767.
  - Salehi, A., 2012. Effect of bio-fertilizers, vermicompost and zeolite on the yield and quality of German chamomile in order to achieve a sustainable agricultural system. Thesis Submitted for the Degree of Philosophy (Ph.D.) in Agronomy Department of Agronomy Faculty of Agriculture Tarbiat Modares University, Tehran.
  - Shahhosseini, R., Omidbaigi, R. and Kiyani, D., 2012. The effect of bio-fertilizers and nitroxin biosulfur and superabsorbent polymer on growth, yield and essential oil content of Basil. Horticultural Science, 26(3): 246-258.
  - Sharma, P. and Dubey, R.Sh., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation, 46(3): 209-221.
  - Simon, J.E., Reiss, B.D., Joly, R.J. and Charles, D.J., 1992. Water stress induced alternations in essential oil content of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 1: 71-75.
  - Smirnoff, N., 1998. Plant resistance to environmental stress. Current Opinion Biotechnology, 9(2): 214-219.
  - Sudabeh, N., Ahmadian, A., Moghaddam, M. and Daneshfar, A., 2014. Effect of drought stress on yield and essential oil of coriander. Journal of Crops Improvement, 16(2): 289-302.
  - Zaki, R.N. and Radwan, T.E., 2011. Improving wheat grain yield and its quality under salinity conditions at a newly reclaimed soil by using different organic sources as soil or foliar applications. Journal of Applied Science Research, 7: 42-55.
  - Zand, A., Aroiee, H., Chaichi, M.R. and Nemati, S.H., 2017. Effects of bio-fertilizers on some physiological characteristics, essential oil percentage and yield of spearmint (*Mentha spicata L.*) under deficit irrigation. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(1): 112-125.
  - Zehtabe-Salmasi, S., Heidari, F. and Alyari, H., 2008. Effect of microelements and plant density on biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita L.*). Plant Science Research, 1(1): 24-28.
  - Misra, A. and Srivastava, N.K., 2000. Influence of water stress on Japanese mint. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 7(1): 51-58.
  - Mohammadi, L., Rizi, S. and Barzgar, R., 2016. Application of mycorrhiza (*Glomus mosseae*) the decrease in salinity in Guinea henna flowers. Journal of Crops Improvement, 18(2): 289-301.
  - Mohammadkhani, N. and Heidari, R., 2007. Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in tow Maize cultivar. Pakistan Journal of Biological Science, 10(22): 4022-4028.
  - Mohammadzadeh, A., Majnoon Hosseini, N., Moghaddam, H. and Akbari, M., 2012. Effect of drought stress and nitrogen fertilizer levels on physiological characteristics of two red kidney bean genotypes. Iranian Journal of Crop Sciences, 14(3): 294-307.
  - Movahhedy-Dehnavy, M., Modarres-Sanavy, S.A.M. and Mokhtassi-Bidgoli, A., 2009. Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of Safflower (*Carthamus tinctorius L.*) grown under water deficit stress. Industrial Crops and Products, 30: 82-92.
  - Nasiri, Y., Zehtabe-Salmasi, S., Nasrollahzade, S., Najafi, N. and Ghassemi-Golezani, K., 2010. Effect of foliar application of micronutrient (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomila L.*). Journal of Medicinal Plants Research, 4(17): 1733-1737.
  - Nourzad, S., Ahmadian, A., Moghaddam, M. and Daneshfar, A., 2014. Effect of drought stress on yield, component yield and essential oil of cilantro under the influence of a variety of organic and chemical fertilizer. Journal of Crops Improvement, 16(2): 289-302.
  - Omidbaigi, R., 2007. Production and Processing of Medicinal Plants (Vol. 2). Behnashr Press, Iran, 438p.
  - Prasad, S.P., Ram, C. and Uma, S., 2004. Effect of water logging duration on chlorophyll content, nitrate reeducates activity, soluble sugars and grain yield of Maize. Annals of Plant Physiology, 18(1): 1-5.
  - Roosta, H.R. and Arabpour, S. 2013. Comparison of the growth, mineral nutrient concentrations and essential oil of two Iranian local basil (*Ocimum basilicum*) in hydroponic and aquaponic systems. Journal of Horticulture Science, 7(3): 235-246.
  - Safikhani, F., Heidri Sharyfabad, H., Siadat, S.A., Sharifi Ashurabadi, A., Seyyenahad, S.A. and Abbaszadeh, B., 2007. Effects of drought stress on percentage and essential oil yield and physiological

## Effects of drought stress and nitrogen fertilizer rate on some physiological characteristics, essential oil percentage, and yield of basil (*Ocimum basilicum* L.)

A. Afkari<sup>1\*</sup>

<sup>1\*</sup>- Corresponding author, Department of Agronomy and Plant Breeding Kaleybar Branch, Islamic Azad University, Kaleybar, Iran, E-mail: afkariahmad@yahoo.com

Received: July 2017

Revised: November 2017

Accepted: December 2017

### Abstract

In order to investigate the effects of drought stress and nitrogen fertilizer on some physiological and biochemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.), a split-plot experiment was conducted based on randomized complete block design in three replications in the research farm of Islamic Azad University, Ardabil Branch, 2015. The treatments included drought stress (70, 140 and 210 mm of class A evaporation pan) and nitrogen fertilizer at three levels (0, 50 and 100 kg/hectare) respectively. The results showed that the effect of drought stress treatment was significant on the traits investigated. The interaction of drought stress × nitrogen fertilizer had a significant effect on the traits measured, such as chlorophyll a, total chlorophyll, relative water content, dry matter yield, and essential oil yield. In addition, fertilizer treatment caused a significant increase in the physiological characteristics, dry matter yield, and essential oil yield. According to the results, the maximum content of chlorophyll a (2.65 mg/g fresh weight), total chlorophyll (3.42 mg/g fresh weight), relative water content (72.02 percent), dry matter yield (2261.25 kg/hectare), and essential oil yield (7.13 kg/hectare) were obtained for the control treatment and 100 kg of nitrogen per hectare. The maximum content of carbohydrates (3.40 µg/g glucose per fresh weight) and proline (0.681 µmol/g fresh weight) was related to the severe stress treatment. The content of chlorophyll a, b, total, relative water content, carotenoid, and essential oil percent and yield decreased by increasing the drought stress, while the content of carbohydrate and proline increased. Therefore, irrigation at 70 mm evaporation and 100 kg nitrogen fertilizer per hectare could be recommended as the best treatment to achieve the highest levels of chlorophyll a, chlorophyll total, relative water content, dry matter yield, and essential oil yield of basil.

**Keywords:** Drought stress, chlorophyll, essential oil, basil (*Ocimum basilicum* L.), fertilizer, carbohydrate.