Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
PSI
Phycological Society of Iran

Effect of foliar application of salicylic acid and biofertilizerson on yield and some biochemical traits of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress

Ahmad Afkari
Department of Physiology, Kaleybar Branch, Islamic Azad University Kaleybar, Iran, Email: afkariahmad@yahoo.com

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 31.03.2021
Revised: 08.06.2021
Accepted: 17.06.2021
Published:24.06.2023

Keywords
Antioxidant enzymes activity
Carbohydrate
Cell membrane stability index
Drought stress
Quantum yield

Abstract

The effects of foliar application of salicylic acid (SA) and biofertilizers on yield and some biochemical traits of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water stress, was investigated using a factorial experiment based on a randomized complete block design in triplicate during the 2019 crop year in the protected area of Horand, East Azarbaijan. Experimental treatments included the first factor of drought stress at three levels (70, 140, and 210 mm of evaporation from Class A evaporation pan), the second factor of seed inoculation with bacteria at five levels (no inoculation as control and inoculations with *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, and co-inoculation with *Azotobacter*, *Pseudomonas* and *Azospirillum*), and the third factor of foliar application of SA at four levels (0, 0.5, 1, and 1.5 mM). Findings revealed that the main effects of drought stress, biofertilizers, and foliar application of SA were significant on the traits under study. Activities of superoxide dismutase and catalase enzymes as well as the photochemical efficiency of photosystem II showed significant differences ($P \leq 0.05$) under combined treatments of drought stress + biofertilizers and drought stress + salicylic acid. Also, in drought-stressed plants cell membrane stability, maximal photochemical efficiency of photosystem II, and grain yield decreased and carbohydrate accumulation, antioxidant enzyme activity, malondialdehyde content, and essential oil content increased. Results of mean interaction effects of drought stress and biofertilizers showed that the highest grain yield (917.11 kg / ha) and maximum photochemical efficiency of photosystem II (0.713) were obtained from 70 mm evaporation treatment and the co-inoculation of bacteria (*Azotobacter*, *Pseudomonas*, and *Azospirillum*). Foliar application of SA increased glutathione peroxidase activity, leaf soluble carbohydrates, membrane stability index, and essential oil contents of basil plants by 41.33%, 54.17%, 24.43%, and 38.98%, respectively while it decreased the content of MDA by 54.72%. According to the obtained results, foliar application of basil with salicylic acid and the combined use of *Azotobacter*, *Pseudomonas*, and *Azospirillum* could partially eliminate the negative effects of drought stress and improve the yield and quality of the crop.

Cite this article as: Afkari,A. (2023). Effect of foliar application of salicylic acid and biofertilizerson on yield and some biochemical traits of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 70(2): 40-58.

©The author(s)
Doi: 10.30495/iper.2022.690259
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.70.5.5

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

اثر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کودهای زیستی بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیای ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش کم‌آبی

احمد افکاری

فیزیولوژی گیاهی، واحد کلیبر، دانشگاه آزاد اسلامی کلیبر، ایران، رایانامه :afkariahmad@yahoo.com

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۳/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۷
تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳

واژه‌های کلیدی:
تنش خشکی
شاخص پایداری غشاء
عملکرد کوآنتوم
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت
کربوهیدرات

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیای ریحان در شرایط تنش کم‌آبی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۸ در شهرستان هوراند از توابع استان آذربایجان‌شرقی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش خشکی (۷۰، ۱۴۰ و ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) فاکتور دوم شامل تلقیح بذر با باکتری‌ها در ۵ سطح (عدم تلقیح به‌عنوان شاهد، تلقیح با *ازوتوباکتر*، *سودوموناس*، *آزوسپریلیوم* و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس و آزوسپریلیوم*) و فاکتور سوم شامل محلول‌پاشی با سالیسیلیک‌اسید در چهار سطح (عدم مصرف، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که اثرات اصلی تنش خشکی، کودهای زیستی و محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید بر کلیه صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تأثیر ترکیب تیماری تنش خشکی در کودهای زیستی، تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. با اعمال تنش کم‌آبی، پایداری غشای سلولی، حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II و عملکرد دانه در گیاه ریحان کاهش یافت و میزان تجمع کربوهیدرات، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای مالون دی‌آلدئید و درصد اسانس رودی را طی نمود. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی و کودهای زیستی نشان داد که بیش‌ترین مقدار عملکرد دانه (۹۱۷/۱۱ کیلوگرم در هکتار) و حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (۰/۷۱۳) از تیمار ۷۰ میلی‌متر تبخیر و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس و آزوسپریلیوم* حاصل شد. محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید به‌ترتیب منجر به افزایش ۴۱/۳۳، ۵۴/۱۷، ۲۴/۴۳ و ۳۸/۹۸ درصدی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، کربوهیدرات محلول برگ، شاخص پایداری غشاء و درصد اسانس و کاهش ۵۴/۷۲ محتوای مالون دی‌آلدئید شد. طبق نتایج به‌دست آمده، محلول‌پاشی با سالیسیلیک‌اسید و کاربرد توأم باکتری‌ها (*ازوتوباکتر*، *سودوموناس و آزوسپریلیوم*) توانست تا حدی اثرات منفی تنش خشکی را بر طرف و منجر به بهبود عملکرد و کیفیت گیاه ریحان گردیده است.

استناد: افکاری، احمد. (۱۴۰۲). اثر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کودهای زیستی بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیای ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش کم‌آبی. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۷۰ (۲)، ۵۸-۴۰.

Doi: 10.30495/iper.2022.690259
Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.70.5.5

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

یکی از گیاهان مهم دارویی و زراعی خانواده نعناعیان، ریحان (*Ocimum basilicum* L.) است که در حدود ۱۲۰۰ هکتار در ایران مورد کشت قرار می‌گیرد. ریحان گیاه دارویی یکساله و اسانس‌دار از تیره نعنائیان با کاهش میزان قند خون می‌تواند به درمان دیابت کمک کند و فشار خون را نیز پایین آورد (Ramroudi and Khomar, 2013). اسانس ریحان خاصیت ضدقارچی و باکتریایی داشته و دفع کننده حشرات است و به‌طور گسترده در صنایع غذایی، عطرسازی، فرآورده‌های دهانی و دندانی کاربرد دارد (Esmaielpour et al., 2019).

خشکی شایع‌ترین تنش غیر زیستی در شرایط فعلی کشور محسوب می‌گردد. بارزترین تأثیر تنش خشکی کاهش تولید اقتصادی گیاهان است، اگرچه علت این کاهش تحت تأثیر قرار گرفتن فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاه است (Hoseini et al., 2020). در شرایط خشکی ترکیبات شیمیایی گیاهان از جمله پرولین، قند، پروتئین و میزان کلروفیل تغییر می‌کند، که می‌توانند مکانیسم‌های مقاومت به خشکی محسوب شوند. 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 ترکیبات آلی، کربوهیدرات‌ها یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های اسمزی به‌شمار می‌رود (Afkari, 2017). تنش خشکی در ریحان سبب کاهش مقدار سطح برگ، کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد ریحان می‌گردد؛ با این حال موجب افزایش مقدار پرولین و قندهای محلول نیز می‌شود (Hassani et al., 2004). نتایج آزمایش دو ساله روی دو گونه ریحان تحت تاثیر سطوح تنش خشکی نشان داد که کمبود آب سبب افزایش میزان کربوهیدرات می‌شود (Khalid, 2006). به‌نظر می‌رسد که در شرایط تنش خشکی، تنش‌های اکسیداتیو به‌عنوان تنش ثانویه عمل کرده و ضمن کاهش پایداری غشاء سلولی، سرعت فتوسنتز و نهایتاً عملکرد را کاهش می‌دهند (Fazeli, et al., 2007).

بررسی پایداری غشای سلولی یکی از راهکارهای شناخت میزان تحمل تنش‌های محیطی از جمله خشکی در گیاهان می‌باشد (Munns, 2002). arhoudi و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده نمودند تنش خشکی سبب تخریب شدید غشای سلولی برگ ارقام سویا شد. کارآیی فتوشیمیایی یک علامت مفید است که برای ارزیابی فتوسیستم II وضعیت سیستم فتوسنتزی گیاه استفاده می‌شود. اندازه‌گیری این صفت غیر مخرب بوده و برای مقاصد آزمایشگاهی و مزرعه‌ای به‌کار می‌رود (Flexas, et al., 2000). Misra و همکاران (۲۰۰۱) در زیتون، بیان کردند که حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) می‌تواند یکی از شاخص‌های مهم در ارزیابی تنش‌های محیطی باشد.

یکی از راهکارهای ساده و عملی استفاده از ترکیباتی است که تحمل گیاهان را به تنش‌های محیطی افزایش دهند و موجب بهبود فعالیت‌های متابولیکی گیاه شوند. از جمله این ترکیبات سالیسیلیک‌اسید یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک‌اسید و ترکیبات متعلق به آن از مشتقات فنل‌های گیاهی می‌باشد که معمولاً قابل حل در آب بوده و یک ترکیب که نقش مهمی در مقاومت به آنتی‌اکسیدانتی و از جمله هورمون‌های گیاهی است (Afkari, 2018). پژوهش‌های گذشته نشان داده است که استفاده از سالیسیلیک‌اسید در گیاهان زراعی باعث بهبود عملکرد و اجزاء عملکرد می‌شود که ناشی از تأثیر سالیسیلیک‌اسید بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه است (Kaydan et al., 2007).

باکتری‌های محرک رشد گیاه نوعی باکتری‌های مفید هستند که عمدتا در ریزوسفر گیاه زندگی می‌کنند و هنگامی که این باکتری‌ها در ارتباط با یک گیاه رشد می‌کنند، به‌طور غیرمستقیم یا مستقیم رشد گیاه میزبان را بهبود می‌بخشند (Abdollahi Arpanahi et al., 2020). باکتری‌های محرک رشد نیز می‌توانند به‌وسیله مکانیسم‌های مختلفی مانند سنتز فیتوهورمون‌های گیاهی (اکسین، سیتوکینین و جیبرلین)، محلول کردن موادی مانند فسفر، تولید سیدروفورها، جذب عناصر و تثبیت نیتروژن، تأثیر مثبتی بر تحمل گیاه به شرایط تنش و بهبود عملکرد داشته باشند (Mishra et al., 2010). گونه‌های مختلف باکتری‌های موجود در خاک، به‌ویژه آن‌هایی که متعلق به جنس *سودوموناس* و *باسیلوس* هستند، با ترشح نمودن اسیدهایی مانند سیتریک، تارتاریک، فرمیک، استیک، پروپیونیک، الکتیک، گلوکونیک، فوماریک و سوکسینیک قادر به محلول نمودن فسفر نامحلول در خاک هستند (Afzal and Bano, 2008). Mahfouz و Sharaf-Eldin (۲۰۰۷) گزارش کردند که تلقیح گیاه ریحان با گونه‌های مختلف *ازتوباکتر* و قارچ *گلوموس* سبب افزایش زیست توده، سرعت رشد و میزان اسانس گیاه شد. تنش خشکی در ریحان سبب کاهش مقدار سطح برگ، کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد ریحان می‌گردد، با این حال موجب افزایش مقدار پرولین و قندهای محلول نیز می‌شود (Hassani et al., 2004). Weisan و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش درصد اسانس و تغییر ترکیب شیمیایی اسانس گیاهان دارویی می‌گردد. Hellal و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر کاربرد کودهای زیستی *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillum lipoferum*، *Bacillus polymyxa*، *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus megatherium* را در شوید مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنان نشان داد که کاربرد کودهای زیستی رشد، عملکرد دانه و اسانس شوید را افزایش داد. نظر به اهمیت توسعه کشت گیاهان داروئی در مناطق مختلف کشور و با توجه به محدودیت منابع خاکی و آبی، شناخت مقاوم‌ترین و پر مصرف‌ترین گیاهان داروئی در هر منطقه لازم بوده لذا از بین گیاهان داروئی، خانواده ریحان جزو پر مصرف‌ترین و رایج‌ترین گیاهان منطقه می باشند. در این راستا به دلیل اهمیت ریحان به‌عنوان یک گیاه دارویی و از طرف دیگر صدمات جبران‌ناپذیر تنش خشکی در مراحل رشد در کاهش عملکرد این گیاه، ضرورت استفاده از روش‌هایی را که موجب کاهش یا تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی می‌شود امری اجتناب‌ناپذیر می‌سازد. بنابراین هدف اصلی از این پژوهش، بررسی تأثیر محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی در کاهش اثرات تنش خشکی بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و عملکرد در گیاه ریحان اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ای در شهرستان هوراند از توابع استان آذربایجان‌شرقی در موقعیت عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۸ دقیقه شمالی با متوسط بارندگی سالیانه ۲۹۰ میلی‌متر با ارتفاع ۱۰۲٤ متر از سطح دریا در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل کاربرد کودهای زیستی در ۵ سطح (عدم تلقیح به‌عنوان شاهد، تلقیح با *ازوتوباکتر*، *سودوموناس*، *آزوسپریلیوم* و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم*)، سالیسیلیک‌اسید در چهار سطح (عدم مصرف، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) و سه سطح تنش خشکی (۷۰، ۱٤۰ و ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیرکلاس A) بود.

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق نمونه‌برداری (سانتی‌متر)	بافت خاک	pH	EC (دسی‌زیمنس بر متر)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	نیتروژن (درصد)	رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)
۰-۳۰	شنی لومی	۷/٦	۲/۵۹	۸/۱۰	٤٥٩	۰/۳٤	۲۱	٤۱	۳۸

محلول‌پاشی در سه مرحله از ۳۰ روز بعد از کشت به فاصله هر ۱۰ روز انجام گردید. مایع تلقیح باکتریایی (10^8 CFU mL^{-1}) از گروه میکروبیولوژی انستیتوی مؤسسه تحقیقات آب و خاک تهران ایران خریداری گردید. مصرف سویه‌های مختلف باکتری به روش بذر مال انجام شد. در این روش بر اساس توصیه مؤسسه آب و خاک ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول باکتری با ۱۰۰ گرم از بذرها به مدت ٤۰ دقیقه مخلوط و بعد بذرها در شرایط سایه تا زمان کاشت نگهداری شدند. همزمان با کاشت، تیمارهای باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد در کنار بذرها قرار داده شد و بلافاصله آبیاری صورت گرفت. اندازه هر کرت دو × چهار متر، فاصله بین کرت‌ها ۰/۵ متر، فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر و فاصله بین بلوک‌ها دو متر در نظر گرفته شد. قبل از اجرای طرح، بر اساس نتایج تجزیه شیمیایی و فیزیکی خاک (جدول ۱)، کود شیمیایی نیتروژن به میزان ٤۰ کیلوگرم در هکتار، کود فسفره P_2O_5 به مقدار ٦۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات‌تریپل و کود پتاس به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سولفات پتاسیم (K_2SO_4) به‌عنوان کود پایه، به‌صورت یکسان به زمین داده شد. کاشت در نیمه اول اردیبهشت ۱۳۹۸ به‌روش دستی انجام شد. جهت 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 بر اساس تیمارهای آزمایش در کل دوره رشد انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتر JENWAY مدل ٦۵۰۵-UV) در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتیگراد) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به روش هلی (Holy, 1972)، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به روش بیوچمپ و فریدوویچ (Beauchamp and Fridovich, 1971)، محتوای مالون‌دی‌آلدئید به روش هیث و پاکر (Heath and Packer,1969) و فعالیت آنزیم کاتالاز به روش آئبی (Aebi, 1984)، بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر تعیین شد.

کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II: اندازه‌گیری کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و بعد از اعمال تنش انجام شد. بدین صورت که ابتدا در ساعت ۱۰ الی ۱۲ صبح به‌صورت تصادفی از سطح جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته گیاهان، با قرار گرفتن گیره بر روی آن‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت، سپس با استفاده از دستگاه کلروفیل فلورومتر PAM (Pulse-amplitude modulated)، (مدل FI-OS5 شرکت Hansatech، ساخت انگلستان) پارامتر Fv/Fm (عملکرد کوانتومی فتوسیستم II) یادداشت برداری شد و فلورسانس کلروفیل در آن محل ثبت گردید (Klughammer, and Schreiber, 2008).

درصد اسانس: استخراج و اندازه‌گیری اسانس پیکر رویشی به روش تقطیر با آب و به‌وسیله دستگاه کلونجر (Clevenger) صورت گرفت. برای این منظور

حدود ٤٠ گرم از نمونه‌های خرد شده برگ و سرشاخه گل‌دهنده پس از دستیابی به رطوبت حدود ۱۰٪ تا ١٤٪ در دیگ کلونجر به مدت ۲ ساعت حرارت داده شد. اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم خشک شد و با دقت توزین گردید و نمونه‌های اسانس برای جلوگیری از نفوذ نور تا زمان آنالیز در جای تاریک و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Esmaielpour et al., 2019).

پایداری غشای سلولی: برای اندازه‌گیری پایداری غشای سلولی یک گرم بافت برگ بالغ را پس از شستشو با آب مقطر، در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در قوطی‌های فیلم استریل شده شناور شده و به مدت چهار ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از این مدت هدایت‌الکتریکی آن اندازه‌گیری شد. هدایت الکتریکی آب توسط هدایت سنج الکتریکی مدل Inob1 در دمای اتاق سنجیده شد. سپس نمونه‌ها به حمام بخار بن‌ماری منتقل شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از این مدت نمونه‌ها از انکوباتور خارج شده در دمای اتاق خنک شدند. در این زمان مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها را اندازه گرفته و از رابطه (۱) پایداری غشای سلولی اندازه‌گیری شد (Farhuodi et al., 2015):

رابطه ۱: $(E_1/E_2) \times ۱۰۰$ =پایداری غشای سلولی

E_1: هدایت الکتریکی محلول قبل از حمام بخار

E_2: هدایت الکتریکی محلول بعد از حمام بخار

کربوهیدرات‌های محلول: برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول ابتدا ۰/۲ گرم بافت سبز به همراه ۱۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۹۵ درصد (یا ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد) را در لوله‌های آزمایش در بسته قرار داده و به مدت یک ساعت درحمام بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و پس از سرد شدن ۱ میلی‌لیتر از نمونه را بر داشته و به آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۰/۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه گردید. میزان نور جذبی در ٤٨٣ نانومتر در اسپکتوفتومتری یادداشت و میزان کربوهیدرات استخراجی بر اساس میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر از جدول استاندارد استخراج گردید (Irigoyen et al., 1992). تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۳ و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی تنش خشکی، کودهای زیستی و محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید بر کلیه صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. عملکرد دانه تحت تأثیر ترکیب تیماری تنش خشکی در کودهای زیستی، تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تأثیر ترکیب تیماری تنش خشکی در کودهای زیستی، تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، غلظت مالون دی‌آلدئید، شاخص پایداری غشاء و محتوای کربوهیدرات تحت تأثیر ترکیب تیماری تنش خشکی در کودهای زیستی، تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید قرار نگرفتند. از طرفی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اثر دو جانبه سویه‌های کود زیستی باکتریایی در محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و هم‌چنین اثر سه جانبه (تنش خشکی × کودهای زیستی × سالیسیلیک‌اسید) بر هیچ یک از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کودهای زیستی در تعدیل اثرات تنش خشکی بر برخی صفات بیوشیمیایی و عملکرد دانه ریحان

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز	غلظت مالون دی‌آلدئید	آنزیم کاتالاز	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز	شاخص پایداری غشاء	عملکرد کوانتومی PS II فتوسیستم	کربوهیدرات	عملکرد دانه	درصد اسانس
تنش خشکی	۲	٤/٥٢٧**	۱/۱٤۷**	۰/۹۲۷**	٥/۱۱٤**	۱۲۳۳/٥٤**	۰/۰۰۱۷*	٥۱/۲۱۷**	۳۳۸۹۲/۰٥**	۰/۰۹۱**
سالیسیلیک‌اسید	۳	۳/۰۰۲**	۰/۸٤٤۸**	۰/٦۷۲**	٤/۰۱٦**	*۱۹٤/٦۲*	۰/۰۰۲۹**	*۳/۰۸٥*	*۲٦۱۹۳/۸۲*	*۰/۱۹۳*
کود زیستی	٤	۳/۰۸۲**	۱/۰۰۲**	۰/۸۹۳**	٤/۸۷۳**	۲۱۷/٤۸*	۰/۰۰۳۸**	۲/۹۳٦**	*۱۷٤۳۹/۹۱*	*۰/۱۷٤*
کودهای زیستی× تنش	۸	ns۲/۳۱۸	ns۰/٦۷۲	۰/٥۱۹*	*۳/٤۰۹	ns۱۳٤/۱۳	*۰/۰۰۰۸	ns۰/٤۳۷	۱۹۳۲۸/٥٦**	ns۰/۰۱٤
سالیسیلیک‌اسید × تنش	٦	ns۱/٦٥٤	ns۰/٥۱۹	۰/٤۰۳*	*۲/۲۳٤	ns۱۲۳/۹٤	*۰/۰۰۰۷	ns۰/٦۹٤	۱۲۷٥٦/۰۱**	ns۰/۰۱٥
کودهای زیستی × سالیسیلیک‌اسید	۱۲	ns۰/۹۸۷	ns۰/۳۸۳	ns۰/۲۸۸	ns۱/۷۷۲	ns۱۱۳/۸۷	ns۰/۰۰۰٦	ns۰/۸۳۷	ns۹۳۸٦/۳۳	ns۰/۰۱۱
کودهای زیستی× سالیسیلیک‌اسید× تنش	۲٤	ns۰/۱٤۱	ns۰/٤۸٤	ns۰/۳٤۲	ns۲/۰۳۲	ns۹۸/۷۲	ns۰/۰۰۰٥	ns۰/۰۹۱	ns٥۱۷٦۹/۰۳	ns۰/۰۲۱
خطای آزمایش	۱۱۸	۲/٦۰۸	۰/۷۰۸	۰/٥۸۹	۳/۹۰٥	٦۳/٤۷	۰/۰۰۰٤	۰/۰۰۰٥٤	۳۱٤۳۱/۰۱	۰/۰۰۰۸
ضریب تغییرات (٪)		۱۱/٦۱	۱۰/۹۷	۱۰/۰۹	۸/٥۷	۱۹/٤۱	۸/۹۳	۱۳/۰۸	۱۱/۲۲	۱۲/۱٥

و **، *: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند. ns

تأثیر اسیدسالیسیلیک، کودهای زیستی و تنش خشکی بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیای ریحان: نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش تنش خشکی، کاربرد سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی با فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان موجب افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش کم‌آبی و در نتیجه بهبود رشد گیاه ریحان شد.

به‌طوری که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۱٤۷/۳۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و مالون دی‌آلدهید (٤۱/۹٦ واحد مول در گرم وزن تر) به مربوط به سطح تنش ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (٦۳/۷٤ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و مالون دی‌آلدهید (۱۷/۸۳ واحد مول در گرم وزن تر) مربوط به تیمار بدون اعمال تنش (۷۰ میلی‌متر تبخیر) بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۱۳٦/۱٤ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به پیش تیمار سالیسیلیک‌سید با غلظت ۱ میلی‌مولار و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۹٦/۲۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مربوط به عدم مصرف سالیسیلیک‌اسید بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۱۳۹/۸٤ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و محتوای مالون دی‌آلدهید (٤٤/۱٤ واحد مول در گرم وزن تر) مربوط به کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم* و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (۷۱/۲۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و محتوای مالون دی‌آلدهید (۲۷/۰۳ واحد مول در گرم وزن تر) مربوط به عدم مصرف کودهای زیستی بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر محتوای کربوهیدرات نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی از ۷۰ میلی‌متر تبخیر به ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر بر میزان تجمع کربوهیدرات در بافت سبز برگ افزوده شد. بنابراین بیش‌ترین میزان کربوهیدرات با میانگین (۳/۳۷۲ میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر) از تیمار آبیاری ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر یا تنش شدید خشکی و کم‌ترین مقدار کربوهیدرات با میانگین (۱/۲٦۷ میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر) از تیمار آبیاری نرمال بدون تنش به‌دست آمد (جدول ۳). از نتایج استنباط می‌شود که با افزایش مصرف سالیسیلیک‌اسید میزان کربوهیدرات‌های محلول نیز افزایش یافت. به‌طوریکه بیش‌ترین میزان کربوهیدرات با میانگین (۳/۳۸۲ میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر) با کاربرد ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید و کم‌ترین میزان کربوهیدرات با میانگین (۲/۱۸۱ میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر) از تیمار عدم استفاده از سالیسیلک‌اسید به‌دست آمد (جدول ۳). هم‌چنین نتایج نشان داد که بیش‌ترین محتوای کربوهیدرات با میانگین (۳/۸۹ میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر) از تیمار مصرف توأم باکتری‌ها (*ازوتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سودوموناس*) و کم‌ترین این مقدار (۱/۷۹۱ میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر) از تیمار عدم استفاده از کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول۳). مطابق جدول ۳، تنش کم‌آبی موجب کاهش پایداری غشاء شد. بیش‌ترین شاخص پایداری غشاء (۲٤/۱٤) از تیمار ۷۰ میلی‌متر تبخیر و کم‌ترین شاخص پایداری غشاء (۱۵/۳۳) از تیمار ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر حاصل شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین شاخص پایداری غشاء (۱۸/۷٤) مربوط به تیمار پیش تیمار سالیسیلیک‌اسید با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بود که با مصرف سالیسیلیک‌اسید با غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار در یگ گروه آماری قرار گرفت. کم‌ترین شاخص پایداری غشاء (۱۵/۰٤) مربوط به عدم مصرف سالیسیلیک‌اسید بود (جدول

۳). کاربرد باکتری‌های فزاینده رشد، افزایش پایداری غشای سلولی را در برگ‌های ریحان به دنبال داشت. به‌طوریکه بیش‌ترین شاخص پایداری غشاء (۲۷/۴۲) مربوط به تیمار کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم* بود که با کاربرد *ازوتوباکتر* در یگ گروه آماری قرار گرفت. کم‌ترین شاخص پایداری غشاء (۱۵/۹۲) مربوط به عدم مصرف کودهای زیستی بود (جدول ۳). افزایش تنش خشکی، محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و استفاده از کود زیستی باکتریایی سبب افزایش درصد اسانس ریحان شد، و بیش‌ترین درصد اسانس (۱/۶۸ درصد) از تیمار ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر (تنش شدید خشکی) و کم‌ترین درصد اسانس (۱/۱۹ درصد) از تیمار ۷۰ میلی‌متر تبخیر به‌دست آمد. هم‌چنین بیش‌ترین درصد اسانس (۱/۵۸ و ۱/۹۴ درصد) به‌ترتیب در تیمار محلول‌پاشی با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید و مصرف توأم باکتری‌ها (*ازوتوباکتر*+ *آزوسپریلیوم* + *سودوموناس*) حاصل شد و کم‌ترین درصد اسانس (۱/۱۴ و ۱/۰۲ درصد) از تیمار عدم استفاده از سالیسیلک‌اسید و عدم تلقیح باکتری‌ها به‌دست آمد (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر تنش، کودهای زیستی و سالیسیلیک‌اسید بر صفات اندازه‌گیری شده ریحان

تیمار	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	مالون دی‌آلدئید (واحد مول در گرم وزن تر)	کربوهیدرات (میکروگرم گلوگز در گرم وزن تر)	شاخص پایداری غشاء (درصد)	درصد اسانس (درصد)
تنش خشکی (میلی‌متر)					
۷۰	۶۳/۷۴^{c}	۱۷/۸۳^{c}	۱/۴۶۷^{c}	۲۴/۱۴^{a}	۱/۱۹^{ab}
۱۴۰	۱۰۱/۴۴^{b}	۳۱/۰۴^{b}	۲/۲۵۲^{b}	۲۰/۴۴^{ab}	۱/۶۳ ^{a}
۲۱۰	۱۴۷/۳۱^{a}	۴۱/۹۶^{a}	۳/۳۷۲^{a}	۱۵/۳۳^{b}	۱/۶۸ ^{a}
باکتری‌های محرک رشد					
عدم تلقیح	۷۱/۲۳^{d}	۲۷/۰۳^{d}	۱/۷۹۱^{c}	۱۵/۹۲^{d}	۱/۰۲^{b}
ازتوباکتر	۱۰۴/۴۱^{b}	۳۹/۷۴^{b}	۳/۰۹۱^{b}	۲۶/۸۱^{ab}	۱/۶۴^{ab}
آزوسپریلوم	۸۷/۴۳^{c}	۳۷/۵۱^{b}	۳/۲۸۲^{ab}	۲۵/۹۲^{b}	۱/۶۹^{ab}
سودوموناس	۸۱/۵۴^{c}	۳۱/۹۸^{c}	۲/۶۰۹^{b}	۲۳/۵۲^{c}	۱/۵۳^{ab}
کاربرد توأم باکتری‌ها	۱۳۹/۸۴^{a}	۴۴/۱۴^{a}	۳/۸۹۷^{a}	۲۷/۴۲^{a}	۱/۹۴ ^{a}
سالیسیلیک‌اسید(میلی‌مولار)					
عدم مصرف	۹۶/۲۱^{b}		۲/۱۸^{b}	۱۵/۰۴^{b}	۱/۱۴^{b}
۰/۵	۱۳۱/۰۹^{a}	۴۳/۹۳^{a} ۴۱/۶۸^{a}	۲/۵۳۳^{b}	۱۶/۹۷^{ab}	۱/ ۲۳^{ab}
۱	۱۳۶/۱۴^{a}	۳۹/۵۷^{ab} ۲۸/۳۷^{b}	۳/۰۲^{ab}	۱۸/۶۱^{a}	۱/۴۷^{a}
۱/۵	۱۲۷/۵۱^{ab}		۳/۳۸^{a}	۱۸/۷۲^{a}	۱/۵۸ ^{a}

حروف مشابه در هر ستون به منزله عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در کودهای زیستی بر عملکرد دانه نشان داد که بیش‌ترین مقدار عملکرد دانه (۹۱۷/۱۱ کیلوگرم در هکتار) از تیمارهای (۷۰ میلی‌متر تبخیر و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم*) و کم‌ترین مقدار عملکرد دانه (۶۰۱/۴۷ کیلوگرم در هکتار) از تیمارهای (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که بیش‌ترین این فعالیت (۱۵۷/٤٤ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم*) و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۵۹/۹٦ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۷۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از کودهای زیستی به‌دست آمد (جدول ٤). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که بیش‌ترین این فعالیت (۱۲۰۷/٦۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم*) و کم‌ترین میزان فعالیت (۵۷۳/۲۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۷۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از کودهای زیستی حاصل شد (جدول ٤). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در کودهای زیستی بر حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II نشان داد که کم‌ترین نسبت (۰/٦۰۲) از تیمار ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از کودهای زیستی و بیش‌ترین این مقدار (۰/۷۱۳) از تیمار ۷۰ میلی‌متر تبخیر و کاربرد همزمان *ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم* به‌دست آمد (جدول ٤).

جدول ٤: مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × کودهای زیستی بر عملکرد دانه، حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، آنزیم کاتالاز و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

تنش خشکی (میلی‌متر)	کودهای زیستی	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد کوانتومی فتوسیستم II	آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	آنزیم سوپراکسید دیسموتا (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)
۷۰	عدم تلقیح	۷۱۲/۳۳^{bc}	۰/٦٤٦^{bc}	۵۹/۹٦^{f}	۵۷۳/۲۸^{j}
	ازوتوباکتر	۸۳۵/۱۲^{ab}	۰/٦۹۵^{a}	۸۰/۰٤^{de}	٦٦۱/۸٦^{i}
	آزوسپریلیوم	۸۱٦/۵۷^{b}	۰/٦۸۷^{ab}	۷۳/۹۲^{e}	۷٤۲/۵۷^{h}
	سودوموناس	۸۰۲/۲۱^{b}	۰/٦٦۹^{b}	٦۷/۵۹^{ef}	٦٦۰/۷۹^{i}
	تلقیح توأم باکتری‌ها	۹۱۷/۱۱^{a}	۰/۷۱۳^{a}	۸۹/۷٤^{d}	۷۸۳/۳٦^{gh}
۱٤۰	عدم تلقیح	٦۷٦/۱۰^{c}	۰/٦۳۱^{c}	۹٤/۳۳^{d}	۸۱۸/۸۱^{g}
	ازوتوباکتر	۷۸۱/٤۱^{b}	۰/٦۸۰^{ab}	۱۱۲/۰٦^{c}	۱۰۲۹/۷۲^{cd}
	آزوسپریلیوم	۷۷۲/۱٤^{b}	۰/٦۷۳^{b}	۱۰٦/۳۳^{cd}	۹۹۱/٦۳^{e}
	سودوموناس	۷۵۸/۲٤^{b}	۰/٦۵٤^{bc}	۹۹/۸۷^{d}	۹۰٤/٤۸^{f}
	تلقیح توأم باکتری‌ها	۸۷٤/٦۱^{a}	۰/٦۹۸^{a}	۱۲۲/۱٤^{c}	۱۰۳۸/۲۸^{cd}
۲۱۰	عدم تلقیح	٦۰۱/٤۷^{d}	۰/٦۰۲^{d}	۱۲۷/۳۳^{bc}	۱۰۰۲/۷٦^{d}
	ازوتوباکتر	۷۱۲/۸٤^{bc}	۰/٦۵۲^{bc}	۱٤۱/٤٤^{b}	۱۱۹۹/۸۹^{ab}
	آزوسپریلیوم	۷۰٤/٦۲^{c}	۰/٦٤٤^{bc}	۱۳۷/۲۷^{b}	۱۱٦۳/۵٤^{b}
	سودوموناس	٦۹۱/۵۳^{c}	۰/٦۲٦^{c}	۱۳۰/۱۹^{b}	۱۰۹٤/۹۳^{c}
	تلقیح توأم باکتری‌ها	۷۱٦/۳٦^{bc}	۰/٦٦۹^{b}	۱۵۷/٤٤^{a}	۱۲۰۷/٦۷^{a}

حروف مشترک در هر ستون حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید بر عملکرد دانه نشان داد که بیش‌ترین مقدار عملکرد دانه (۹۸۷/۵۷ کیلوگرم در هکتار) از تیمارهای (۷۰ میلی‌متر تبخیر و محلول‌پاشی با غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید) و کم‌ترین مقدار عملکرد دانه (۶۰۶/۶۴ کیلوگرم در هکتار) از تیمارهای (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از سالیسیلیک‌اسید) به‌دست آمد (جدول ۵). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۳۴/۶۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و محلول‌پاشی با غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید) و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۴۸/۶۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۷۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از سالیسیلیک‌اسید) به‌دست آمد (جدول ۵). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱۱۸۱/۷۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و محلول‌پاشی با غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید) و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۶۵۱/۸۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) از تیمار (۷۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از سالیسیلیک‌اسید) حاصل شد (جدول ۵). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح تنش خشکی در سالیسیلیک‌اسید بر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II نشان داد که حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (۰/۷۱۱) از تیمار (۷۰ میلی‌متر تبخیر و محلول‌پاشی با غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید) و کم‌ترین مقدار عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (۰/۶۰۱) از تیمار (۲۱۰ میلی‌متر تبخیر و عدم استفاده از سالیسیلیک‌اسید) حاصل شد (۵).

جدول ۵: مقایسه میانگین برهمکنش تنش خشکی × سالیسیلیک‌اسید بر عملکرد دانه، حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

تنش خشکی (میلی‌متر)	سالیسیلیک‌اسید (میلی‌مولار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد کوانتومی فتوسیستم II	آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)
۷۰	عدم مصرف	۵۱/۲۴^{b}	۲/۷۹^{ab}	۶۷/۴۷^{b}	۶/۲۷^{ab}
	۰/۵	۵۶/۹۲^{ab}	۳/۰۴^{ab}	۶۹/۹۲^{ab}	۶/۵۹^{ab}
	۱	۵۸/۷۴^{a}	۳/۲۱^{a}	۷۲/۳۰^{a}	۶/۹۳^{a}
	۱/۵	۵۹/۸۷^{a}	۳/۴۳^{a}	۷۳/۱۸^{a}	۷/۲۹ ^{a}
۱۴۰	عدم مصرف	۴۹/۱۲^{c}	۱/۸۳ ^{c}	۶۴/۷۲^{c}	۵/۶۷b^{c}
	۰/۵	۵۵/۷۸^{b}	۲/۵۵ ^{b}	۶۷/۰۵^{b}	۶/۰۵^{b}
	۱	۵۷/۶۱^{ab}	۲/۷۲^{ab}	۶۹/۳۹^{ab}	۶/۳۹^{ab}
	۱/۵	۵۸/۶۳^{a}	۲/۹۹^{ab}	۷۰/۶۲^{ab}	۶/۸۳^{a}
۲۱۰	عدم مصرف	۴۴/۸۲^{d}	۱/۲۴^{c}	۵۷/۱۷^{d}	۵/۵۷^{c}
	۰/۵	۵۲/۴۸^{b}	۱/۸۹ ^{c}	۶۰/۲۷^{cd}	۵/۴۴^{c}
	۱	۵۴/۲۹^{b}	۲/۱۱^{b}	۶۲/۲۷^{c}	۵/۸۶^{bc}
	۱/۵	۵۵/۳۸^{ab}	۲/۴۱^{b}	۶۳/۲۸^{c}	۶/۲۱^{b}

حروف مشترک در هر ستون حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد است.

بحث

به نظر می‌رسد کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را می‌توان به کاهش تنش‌های القاشده در طی فرآیند تنفس نوری از قبیل کاهش میزان پراکسید هیدروژن و سوپراکسید هیدروژن در برگ‌ها نسبت داد. از طرفی در شرایط محدودیت آبی با بسته شدن روزنه‌ها ورود CO_2 به داخل سلول‌های برگی نیز کاهش یافته و فعالیت کربوکسیلاسیون آنزیم روبیسکو برای تولید کربوهیدرات موردنیاز گیاه با تأخیر مواجه می‌شود. در این حالت مولکول‌های پرانرژی ATP و NADPH که در جریان مرحله نوری فتوسنتز تولید شده، مصرف نشده و اکسیژن به‌عنوان پذیرنده الکترون‌ها عمل کرده و منجر به تشکیل رادیکال‌های سوپراکسید می‌شود (Seyed Sharifi and Seyed Sharifi, 2020). Farajzadeh Memari Tabrizi و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که بیش‌ترین فعالیت کاتالاز در گیاه ریحان در تیمار کاربرد ترکیبی از سویه‌های کود زیستی باکتریایی به‌دست آمد. Mathivanan و همکاران (۲۰۱٤) نیز نشان دادند که کاربرد سویه‌های مختلف کودهای زیستی باکتریایی باعث افزایش معنی‌دار پراکسیدازها و کاتالاز در گیاه می‌شود. آنان این افزایش را ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی دانستند. این گونه به نظر می‌رسد که افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تنش کم‌آبی و تحت تأثیر سالیسیلیک‌اسید به دلیل نقش دفاعی و حفاظتی این آنزیم در برابر اکسیدانت‌های سلولی باشد. به‌علاوه این افزایش سطح فعالیت مانع از پراکسید شدن چربی‌های غشاء سلولی تحت شرایط خشکی می‌گردد. القای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به گیاهان توانایی چیره شدن به تنش‌های اکسیداتیو را می‌دهد و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌طور ثانوی در فرودست این آنزیم فعال می‌شوند (Afkari, 2017). با توجه به اینکه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برای مقابله با اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدی در شرایط تنش در گیاهان تولید می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که گیاه آفتابگردان باعث حذف تعداد زیادی از اکسیژن‌های رادیکال آزاد تولیدی شود. آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز آنزیم مهمی است که در شرایط تنش اکسیداتیوی فعال می‌شود این آنزیم قادر به هضم و حذف H_2O_2 شود. زیرا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط تنش موجب کاهش خسارت به گیاه می‌شود (Rahmani Iranshahi et al., 2016). هنگامی که سالیسیلیک‌اسید در غلظت و زمان مناسب به کار برده می‌شود موجب یک تنش اکسیداتیو موقت و گذرا در سلول‌های گیاهی شده که به‌عنوان یک فرآیند مقاوم‌سازی عمل می‌نماید و موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد (Hoseini et al., 2020). سالیسیلیک‌اسید با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز یا NAD(P)H اکسیداز متصل به غشای سیتوپلاسمی (آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه پراکسیدهیدروژن) موجب افزایش موقت و جزئی در مقدار پراکسید هیدروژن (به‌عنوان پیام‌بر ثانویه) گردیده که منجر به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد. برای القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت‌های بسیار کمی از پراکسید هیدروژن موردنیاز است و پراکسید هیدروژن در غلظت‌های بالا، خود به‌عنوان عامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Jaleel et al., 2009). محققان گزارش کردند که پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید منجر به تجمع آبسیزیک‌اسید می‌شود که می‌تواند پیش سازگاری گیاهچه‌های تحت تنش‌های محیطی را تحریک کند، در نتیجه آبسیزیک‌اسید، سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های ضد تنش را القا کرده و باعث ایجاد مقاومت در گیاهان می‌شود. بعلاوه، این طرز عمل

سطح انواع اکسیژن‌های فعال را پایین می‌آورد، از این‌رو فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ریشه‌های جوان گندم کاهش می‌یابد (Shakirova et al., 2003). با افزایش فعالیت این آنزیم سمیت‌زدایی یون سوپراکسید افزایش و آسیب‌های حاصله از آن در گیاه کاهش می‌یابد چون کاربرد خارجی سالیسیلیک‌اسید تحمل به تنش خشکی را در گیاهان افزایش می‌دهد (Tari et al., 2002). از آنجائیکه مصرف پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سبب کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار آن می‌گردد می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است این ماده به‌طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند. کاتالاز یکی از مهم‌ترین جاروب کننده‌های H_2O_2 محسوب می‌شود که این عمل را با تبدیل H_2O_2 به آب و O_2 انجام می‌دهد (Dixit et al., 2001). سالیسیلیک‌اسید، بازدارنده فعالیت آنزیم کاتالاز است که یک آنزیم پاک‌سازی‌کننده پراکسیدهیدروژن است، در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش این ماده در گیاه می‌شود (Horváth et al., 2002). در شرایط تنش خشکی، گیاه برای کاهش اثرات تنش اکسیداتیو منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده است. این نشان می‌دهد که گیاه ریحان احتمالاً توانسته است با فعالیت آنزیمی بالای خود کم‌ترین تخریب سلولی را در گیاه موجب شود. با وجود اینکه تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کاهش داده است اسید سالیسیلیک این روند را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش آنزیم‌ها در گیاه شد. Ahmadpour و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند که در تمامی ارقام مورد بررسی عدس، تنش رطوبتی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شرایط بدون تنش شد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج تحقیقات Agarwal و همکاران (۲۰۰۵) بر روی گندم و Hassanpour Darvishi (۲۰۱۵) بر روی ماشک مطابقت دارد.

در واقع بررسی وضعیت فتوسنتز یک معیار قابل اعتماد برای ارزیابی میزان سازگاری گیاهان نسبت به محیط اطرافشان می‌باشد. مقدار عملکرد کوانتومی نشان دهنده بیشینه کارایی کوانتومی فتوسیستم II و معیاری از نحوه عملکرد فتوسنتز گیاهی است (Fracheboud, 2006). به نظر می‌رسد در تیمارهایی که نسبت Fm/Fv کمتر است، دستگاه فتوسنتزی در آن‌ها به خشکی حساس‌تر است و احتمال داده می‌شود که تنش کم‌آبی با اختلال در انتقال الکترون در واکنش مربوط به تجزیه آب به بروز این پدیده کمک کرده و کارایی کوانتومی فتوسنتز خالص، کاهش یافته است. در این آزمایش هم بخشی از افزایش در عملکرد کوانتومی به علت کاربرد سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که کاهش میزان عملکرد کوانتومی فتوسیستم II عمدتاً به خاطر وقوع آشفتگی در کلروپلاست بوده و کاهش عدد کلروفیل‌متر نیز این موضوع را تأیید می‌کند، زیرا فلورسانس کلروفیل به‌طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط داشته و می‌توان از آن به‌عنوان معیاری برای اندازه‌گیری کارایی فتوسیستم نام برد. کاهش نسبت Fm/Fv در شرایط تنش خشکی می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و کاهش می‌یابد (Chaves et al., 2009). در یک آزمایش، نسبت Fm/Fv ژنوتیپ‌های نخود در اثر تنش خشکی به‌صورت

معنی‌داری کاهش یافت و ژنوتیپ‌های نخود حساس به خشکی نسبت Fm/Fv کم‌تری نسبت به ژنوتیپ‌ها ی مقاوم به خشکی داشتند (Rahbarian et al., 2011). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که کاهش میزان عملکرد کوانتومی فتوسیستم II عمدتاً به خاطر وقوع آشفتگی در کلروپلاست بوده و کاهش عدد کلروفیل‌متر نیز این موضوع را تأیید می‌کند، زیرا فلورسانس کلروفیل به‌طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط داشته و می‌توان از آن به‌عنوان معیاری برای اندازه‌گیری کارایی فتوسیستم نام برد. بنا به اظهار Abdoli و همکاران (۲۰۱۳) میزان کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II همبستگی مثبتی با تحمل به خشکی دارد و ارقامی که عملکرد کوانتوم بیش‌تری دارند، تحمل خشکی بالاتری خواهند داشت. Seyed Sharifi و Seyed Sharifi (۲۰۲۰) در بررسی اثر قطع آبیاری در مراحل زایشی و کاربرد کودهای زیستی و متانول بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیایی نخود گزارش کردند که بیش‌ترین مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (۰/۹۳۳) در شرایط آبیاری کامل و کاربرد ۳۰ درصد متانول و استفاده توأم از میکوریز با ریزوبیوم و *سودوموناس* به دست آمد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج Seyed Sharifi و Seyed Sharifi (۲۰۲۰) بر روی نخود و Bahari Saravi و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ریحان مطابقت دارد.

از نتایج استنباط می‌شود که با افزایش مصرف سالیسیلیک‌اسید و تنش خشکی میزان تجمع کربوهیدرات‌های محلول نیز افزایش یافت. افزایش کربوهیدرات‌های محلول در زمان تنش را می‌توان به علت توقف رشد، سنتز این ترکیبات از مسیر غیرفتوسنتزی و هم‌چنین تخریب قندهای نامحلول که باعث افزایش قندهای محلول می‌شود، نسبت داد (Hajebi and Heidari Sharif Abad, 2005). یافته‌های این تحقیق با نتایج Ramroudi and Khomr (۲۰۱۳) و Babaei (۲۰۱۱) در ریحان همخوانی دارد. نظرات متفاوتی در رابطه با افزایش کربوهیدرات در برگ در شرایط تنش خشکی ذکر گردید است که مهم‌ترین آن را تجزیه پروتئین‌ها در این شرایط و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز کربوهیدرات در شرایط تنش خشکی بیان نموده‌اند. در کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد، عواملی نظیر نوع گیاه، غلظت آن، زمان و تعداد دفعات کاربرد در عکس‌العمل گیاه تأثیر می‌گذارد (Ramroudi and Khomr, 2013). Bandurska و Stroinsk (۲۰۰۵) بیان کردند که تیمار گیاه با سالیسیلیک‌اسید ، محتوای اسید آبسیزیک برگ‌های ژنوتیپ‌های جو را افزایش داد، در نتیجه اسید آبسیزیک و پرولین ممکن است به توسعه واکنش‌های ضد تنشی القاء شده به‌وسیله سالیسیلیک‌اسید کمک کنند. نتایج مشابهی نیز مبنی بر افزایش پرولین به‌واسطه کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش در تریتیکاله توسط Kheirizadeh و همکاران (۲۰۱۶) گزارش شده است.

کاربرد باکتری‌های فزاینده رشد، افزایش پایداری غشای سلولی را در برگ‌های ریحان به دنبال داشت. تنش خشکی با شروع یک تنش اکسیداتیو همراه است، بنابراین در طی آن تولید و ذخیره گروه‌های سمی و مخرب اکسیژن آزاد افزایش می‌یابد، در نتیجه تحت شرایط تنش خشکی به‌سرعت چربی‌های غشاء پراکسید گردیده و پایداری غشاء سلول از بین می‌رود (Van and Inze Montagu, 1995). تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی فرونشاننده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که این امر منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و در نتیجه خسارت به غشاء سلولی و هم‌چنین تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد (Masoumi et al., 2010).

بررسی تخریب غشاهای سلولی و نشت‌پذیری غشا ناشی از تخریب غشاهای سلولی یکی از معیارهای بررسی واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله خشکی است (Munns, 2002). با افزایش میزان تنش در دوره رشد تراوش مواد بیش‌تری صورت گرفته و در نتیجه پایداری غشاء سلولی کاهش یافت. افزایش درصد آسیب سلولی احتمالاً به‌دلیل کاهش درصد آب در ساختمان غشاء سلولی است زیرا ۵۰- ۳۰ درصد ساختمان غشاء را آب تشکیل می‌دهد (Chelgerdi et al., 2014). Mardani و همکاران (۲۰۱۲) نیز بیان کردند که میزان نشت یونی تحت تأثیر تنش افزایش می‌یابد. گرچه گزارش شده است که در غلات زمستانه پایداری غشاء در برابر تنش گرمایی و خشکی در ارقام مقاوم بیش‌تر از ارقام حساس است (Gavuzzii et al., 1997). Haghighi و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند که بیش‌ترین شاخص پایداری غشا سلول، در تیمار ظرفیت زراعی ۵۰ درصد و کاربرد ۱۰ درصد سوپرجاذب حجمی مشاهده شد. Inze و Van Montagu (۱۹۹۵) گزارش کردند مقادیر نشت یونی از یاخته‌های برگی در سطوح رطوبتی پایین، بیش‌تر اتفاق می‌افتد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت مصرف سوپرجاذب موجب کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی بر غشاء سیتوپلاسمی می‌شود که نتایج به‌دست آمده با گزارش‌های Esmaielpour و همکاران (۲۰۰۹) در ارقام لوبیا قرمز مطابقت دارد.

گیاه ریحان در هنگام تنش خشکی سطح برگ، تعداد شاخه‌های جانبی و ارتفاع بوته خود را کاهش داده و این امر سبب کاهش مواد فتوسنتزی می‌گردد که نتیجه آن کاهش عملکرد دانه در ریحان گردید. اما استفاده از کودهای زیستی و کاربرد هورمون سالیسیلیک اسید منجر به بهبود رشد این گیاه در شرایط تنش‌زا شد. زیرا سالیسیلیک اسید تاثیر خود را بر فتوسنتز از طریق عوامل روزنه‌ای، رنگیزه و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می‌کند. اثرات مفید باکتری‌های *ازتوباکتر*، *آزوسپیریلوم* و *سودوموناس* ممکن است به خاطر مشارکت آن‌ها در افزایش رشد گیاه به‌واسطه تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفات نامحلول خاک و تولید هورمون‌های گیاهی باشد که مجموعه این عوامل می‌تواند جذب بیش‌تر مواد غذایی توسط گیاه را تحریک کرده و منجر به بهبود فرآیند فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد گیاه شود (Mozaffari et al., 2015). بخشی از افزایش عملکرد دانه در کاربرد کودهای زیستی و سالیسیلیک‌اسید را می‌توان به بهبود محتوای کلروفیل و افزایش عملکرد کوانتومی نسبت داد. بخشی از بهبود عملکرددانه به‌واسطه کاربرد باکتری‌های محرک رشد را می‌توان به ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل‌دسترس ساختن آن‌ها، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی نسبت داد که در مجموع موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Roesti et al., 2006). در آزمایش گلدانی دیگری، اثرات *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* به صورت توأم و جداگانه، روی رشد و عملکرد گندم مورد مطالعه قرار گرفت و گزارش شد که اثر توأم دو باکتری بهتر از اثر هر یک از آن‌ها به تنهایی بود (Rai and Caur, 1998). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با نتایج Seyed Sharifi و Seyed Sharif (2020) بر روی نخود، Ramroudi و Khomar (۲۰۱۳) بر روی ریحان و Khalilzadeh و همکاران (۲۰۱٦) بر روی گندم مطابت دارد.

نتیجه‌گیری

با اعمال تنش کم‌آبی، پایداری غشای سلولی، حداکثر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II و عملکرد

دانه در گیاه ریحان کاهش یافت و میزان تجمع کربوهیدرات، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و درصد اسانس افزایش یافت. می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از سالیسیلیک‌اسید و کودهای زیستی تا حد زیادی آثار مضر حاصل از تنش خشکی را در ریحان از طریق بهبود سیستم آنزیمی گیاه و حذف رادیکال‌های آزاد تعدیل بخشید و سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش شد. طبق نتایج به‌دست آمده، مصرف سالیسیلیک‌اسید در غلظت ۱ میلی‌مولار و مصرف توأم باکتری‌ها (*ازوتوباکتر*، *سودوموناس* و *آزوسپریلیوم*) از طریق کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی و کاهش اثرات مضر اکسیداتیو و در نهایت فراهم شدن بهتر آب در گیاه نقش دارند و استفاده از آن‌ها می‌تواند به‌طور موثری باعث افزایش در صفات کمی و کیفی در گیاه ریحان گردد.

References

Abdoli, M., Saeidi, L., Jalali-Honarmand, S., Mansourifar, S. and Ghobadi, M.A. (2013). Evaluation of some physiological and biochemical traits and their relationships with yield and its components in some improved wheat cultivars under post-anthesis water deficit. Enviromental Stresses in Crop Sciences. 6(1): 47-63. (In Persian with English abstract).

Abdollahi Arpanahi, A., Feizian, M. and Mehdipourian, G. (2020). Influence of drought stress and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on morphological characteristics, essential oil yield and composition of *Thymus daenensis* Clack. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 36(3): 417-428. (In Persian with English abstract).

Aebi, H. (1984). Catalase in Vitro. 105: 121-126, In: Packer, L., (Ed.), Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, 600p.

Afkari, A. (2017). Effects of drought stress and nitrogen fertilizer rate on some physiological characteristics, essential oil percentage, and yield of basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 33(6): 1047-1059. (In Persian with English abstract).

Afkari, A. (2018). Effect of foliar application of salicylic acid in adjustment of the effects of drought stress on some morphological characteristics and photosynthetic pigments in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Developmental Biology. 10(2): 33-44. (In Persian with English abstract).

Afzal, A. and Bano, A. (2008). Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). International Journal of Agriculture and Biology. 10: 85-88.

Babaei, B. (2011). Effect of cycocel on quantitative and qualitative characteristics of *Ocimum bosilicus* L. under drought stress. MSc dissertation, Faculty of Agriculture, the University of Zabol, Iran. [In Persian].

Bahari Sarva, H., Pirdashti, H. and Yaghoubian, Y. (2017). Response of chlorophyll fluorescence and physiological parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.) to plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under salinity stress. Journal of Plant Production Functions. 6(19): 89-104. [(In Persian with English abstract).

Bandurska, H. and Stroinski, A. (2005). The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. Acta Physiologiae Plantarum. 27: 379- 386.

Chelgerdi, A., Saffari, M. and Abdolshahi, R. (2014). Effect of super absorbent polymer, potassium sulphate and farmyard manure on physiological characteristics of millet (Setaria italica) optimum irrigation and drought stress conditions. Journal of Crop Production. 6(2): 35-56. (In Persian with English abstract).

Chaves, M., Flaxes, J. and Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress regulation mechanism from whole plant to cell. Annals of Botany. 103: 551-556.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2001). Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Experimental Botany. 52: 1101- 1109.

Esmaielpour, B., Fatemi, H. and Moradi, M. (2019). Effects of nitric oxide on some morphophysiological and biochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 35(4): 601-616. (In Persian with English abstract).

Esmaielpour, P., Habibi, D. and Tavassoli, A. (2009). Super absorbent polymer water effect on different cultivars of red beans and physiological traits under drought stress under greenhouse conditions. Journal Plant Ecosystem Research. 21(6): 75-91.

Farhoudi, R. and Tafti, M.M. (2011). Effect of salt stress on seedlings growth and ions homeostasis of soybean (Glysin max) cultivars. Advances in Environmental Biology. 5(8): 2522-2526.

Farhoudi, R., Modhej, A. and Payandeh, K.H. (2015). Effect of final season drought tension on photosynthesis, seed yield and seed vigor of five soybean cultivars. Crop physiology journal. 24(6): 41-55. (In Persian with English abstract).

Farajzadeh Memari Tabrizi, E., Roshdi Maleki, M., Farajzadeh Memari Tabrizi, N. and Ahmadzadeh, V. (2018). Effects of inoculation of seeds with different strains of bacteria and mycorrhizal fungi on growth, essential oil production, biochemical and physiological characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 34(5): 805-819. (In Persian with English abstract).

Fazeli, F., Ghorbanli, M. and Niknam, V. (2007). Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in tow sesame cultivars. Journal of Biologia Plantarum. 51: 98-103.

Flexas, J., Briantais, J.M., Cerovic, Z., Medrano, H. and Moya, I. (2000). Steady-state and maximum chlorophyll flurescence response to water stress in grapevine leaves: a new remote sensing system. Remote Sensing of Environment. 73: 283-297.

Haghighi, M., Mozafariyan, M. and Afifipour, Z. (2014). The effect of superabsorbent polymer and different withholding irrigation level on some qualitative and quantitative traits of tomato (*Lycopersicum esculentum*). Journal of Horticultural Science. 28(1): 125-133. (In Persian with English abstract).

Hajebi, A.H. and Heidari Sharif Abad, H. (2005). Investigation of effect of drought on growth and nodulation of three species of clover. Pajouhesh and Sazandegi. 66: 13-22. (In Persian with English abstract).

Hassani, A., Omidbaigi, R. and Heidari Sharif Abad, H. (2004). Study of some drought resistance indices in basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Agricultural Science Natural Resources. 10: 65-74. (In Persian with English abstract).

Hassanpour Darvishi, H. (2015). Effect of lead and zinc and mycorhiza fungi role on antioxidant enzymes activity and biomarkers of destruction in alfalf, green pea and vetch. Crop Physiology Journal. 6(24): 73-88. (In Persian with English abstract).

Health, R.L. and Packer, L. (1969). Phytoperoxidation in isolate chloroplast .I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Bioch. Biophys. 125:189-198.

Hellal, F.A., Mahfouz, S.A. and Hassan, F.A.S. (2011). Partial substitution of mineral nitrogen fertilizer by bio-fertilizer on (*Anethum graveolens* L.) plant. Agriculture and Biology Journal of North America. 2(4): 652-660.

Holy, M.C. (1972). Indole acetic acid oxidase: a dual catalytic enzyme. Plant Physiology. 50, 15-18.

Horváth, E., Janda, T., Szalai, G., Páldi, E., 2002. In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isoenzymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. Plant Sciences. 163: 1129-1135.

Hoseini, Z., Barzegar, T., Ghahremani, Z. and Nikbakht, J. (2020). Physiological responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., cv. Sanry) to foliar spray of salicylic acid and biostimulant megafol under deficit irrigation stress. Enviromental Stresses in Crop Sciences. 13(3): 845-855.

Inze, D. and Van Montagu, M. (1995). Oxidative stress in plants. Current Opinion in Biotechnology. 6: 153-158.

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 saviiva*). Plants Physiology Plantarum. 84: 55-60.

Jaleel, C.A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H.J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S. and Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. Acta Physiologia Plantarum. 31: 427-436.

Kaydan, D., Yagmur, M. and Okut, N. (2007). Effects of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). Tarim Bilimleri Dergisi. 13: 114-119.

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

Khalilzade, R., Sayed Sharifi, R. and Jaliliyan, J. (2016). Effect of cycocle and bio fertilizers on quantitative and qualitative yield, rate and grain filling period of wheat under water limitation conditions. Crop Physiology Journal. 8(31): 41-60. (In Persian with English abstract).

Kheirizadeh, y., Sayed Sharifi, R., Sedghi, M. and Barmaki, M. (2015). Effects of biofertilizers and nano zinc oxide on remobilization and some growth indices of triticale under water limitation conditions . Crop Physiology Journal. 7(26): 37-56. (In Persian with English abstract).

Klughammer, C. and Schreiber, U. (2008). Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. PAM Application Notes. 1: 27 -35.

Mahfouz, S.A. and Sharaf-Eldin, M.A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). International Agrophysics. 21: 361-366.

Mardani, H., Bayat, H. and Azizi. M. (2012). Effects of Salicylic acid Application on Morphological and Physiological Characteristics of Cucumber Seedling (*Cucumis sativus* cv. Super Dominus) under drought Stress. Journal of Horticulture Science. 25(3): 320-326. (In Persian with English abstract).

Masoumi, A., Kafi, M., Khazaei, H.R. and Davari, K. (2010). Effect of drought stress on water status, electrolyte Leakage and enzymatic antioxidants of Kochia (*Kochia scoparia*) under saline conditions. Pakistan Journal of Botany. 42(5): 3517-3524.

Mathivanan, S., Chidambaram, A.L.A., Sundaramoorthy, P., Baskaran, L. and Kalaikandhan, R. (2014). The effect of plant growth promoting rhizobacteria on groundnut (Ar*achis hypogaea* L.) seed germination and biochemical constituents. International Journal of Current Research and Academic Review. 2: 187-194.

Mishra, M., Kumar, U., Mishra, P.K. and Prakash, V. (2010). Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of *Cicer arietinum* L. growth and germination under salinity. Advances in Biological Research. 4: 92-96.

Mozaffari, A., Daneshian, J., Habibi, D., Shiranirad, A.H. and Asgharzade, A. (2015). Investigation the effect of plant growth promoting rhizobactria on some morphophysiological traits of bread wheat under terminal drought stress conditions. Crop Physiology Journal. 7(27): 21-36. (In Persian with English abstract).

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment. 25: 239-250.

Rahbarian, R., Khavari-nejad, R.A., Ganjeali, A., Bagheri, A.R. and Najafi, F. (2011). Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Acta biologica Cracoviensia Series botanica. 53: 47-56.

Rahmani Iranshahi, D., Sepehri, M., Khoshgoftarmanesh, A.H., Eshghizadeh, H.R. and Jahandideh Mahjen Abadi, V. (2016). Inoculation effects of endophytic fungus (*Piriformospora indica*) on antioxidant enzyme activity and wheat tolerance under phosphorus deficiency in hydroponic system. Journal Science Technology. 6(4): 75-86. (In Persian with English abstract).

Rai, S.N. and Caur, A.C. (1998). Characterization of *Azotobacter* Spp. and effect of *Azospirilum lipoferum* on the yield and N-Uptake of wheat crop. Plant and Soil. 109: 131-143.

Ramroudi, M. and Khomar, A.R. (2013). Interaction effects of salicylic acid spraying and different irrigation levels on some quantity and quality traits, and osmoregulators in basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology. 4(2): 19-32. (In Persian with English abstract).

Roesti, D., Gaur, R., Johrim, B.N., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K. and Aragno, M. (2006). Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. Soil of Biology and Biochemistry. 38: 1111–1120.

Seyed Sharifi, R. and Seyed Sharifi, R. (2020). Effect of irrigation withholding in reproductive stages and metanol and bio fertilizer application on yield and some biochemical traits of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Enviromental Stresses in Crop Sciences. 13(3): 857-869. (In Persian with English abstract).

Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Fatkhutdinova, D.R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science. 164: 317-322.

Tari, I., Csiszár Szalai, J., Horváth, G., Pécsváradi, F., Kiss, A., Szepesi, G., Szabó, Á.M. and Erdei, L. (2002). Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. Acta Biol Szeged. 46(3-4): 55-56.

Weisany, V., Rahimzadeh, S. and Sohrabi, Y. (2012). Effect of bio-fertilizers on morphological, physiological characteristic and essential oil content in basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 28(1): 73-87. (In Persian with English abstract).