Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 39, No. 4, Page 568-588 (2023)

DOI: 10.22092/ijmapr.2023.358741.3171

Effects of ascorbic acid on some morpho-physiological traits of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress

Masoumeh Moradi[1], Behrouz Esmaielpour[2*], Mousa Torabi giglou[3] and Mahsa Ahadzadeh[1]

1- M.Sc. student, Department of Horticultural Sciences, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran
2*- Corresponding author, Department of Horticultural Sciences, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran
E-mail: Behsmaiel@yahoo.com
3- Department of Horticultural Sciences, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran

Received: May 2022 Revised: June 2023 Accepted: June 2023

Abstract

Background and objectives*:* Basil (*Ocimum basilicum* L.) is a plant from the Mint family and the genus Ocimum, which has many species, among which *O. basilicum* is the most useful economic species, and like other plants of the Mint family, it is a source of cyclic compounds and essential oil. It is also known as a rich source of phenolic compounds (especially rosmarinic acid and caffeic acid) and flavonoids. The plant's vegetative body contains essential oils. Linalool, methyl chavicol, citral, euginol, cineol, geraniol, camphor, and methyl cinnamate are important components of basil essential oil. As the most critical abiotic stress, drought stress plays a crucial role in reducing the yield of medicinal plants. It causes numerous morpho-physiological and biochemical changes in the plant. The performance of the effective substance is influenced by the plant's economic performance and environmental conditions, including drought stress. Stress effects are different at different stages of growth and development.

Methodology: To investigate the effect of ascorbic acid on native *O. basilicum* the native population "Shahre-ray," under drought stress conditions, a factorial experiment in the form of a randomized complete block design was performed in four replications on the research farm of Horticulture Department of Mohaghegh Ardabili University in 2017. Treatments included drought stress (complete irrigation and cessation of irrigation at the beginning of reproductive growth and cessation of irrigation at 50% flowering) and ascorbic acid foliar application at four concentrations of 0.0, 0.5, 1, and 2 mM. This experiment was field operated in May 2016. Before the experiment, the bed preparation operation included plowing, disking, and leveling the ground. The plots of one meter in length and width were created. The seeds were planted in three lines with 15 cm plant spacing. 3-4 cm of rotted manure was used to cover the seeds. After determining the soil texture by the hydrometric method, the mentioned treatments were applied to stress. On the first day, irrigation was a flood, and after germination, irrigation was reduced. All traits were measured in the Physiology Laboratory after the Horticulture Science Department of the Faculty of Agricultural Sciences analyzed the data with SAS software. Also, the treatment averages were compared with Duncan's multi-range test at a probability level of 5%.

Results: The results showed that with increasing drought stress intensity, total plant height, stem length, number of leaves, and plant dry weight decreased by 36.08%, 39.75%, 51.26%, and 53.80% compared to the control treatment, respectively. If ascorbic acid spraying could improve these values, the highest root length was obtained under severe stress conditions (beginning of flowering)

Copyright: © 2023 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

and treatment with ascorbic acid (15.83 cm), which showed an increase of about 31.91% compared to the control treatment. Drought stress conditions increased proline and essential oil components. Chlorophyll content also decreased under severe stress. Also, by applying drought stress, in all studied traits, the highest amount of ascorbic acid treatment (concentrations of 0.5 and 1 mM) increased, and higher concentrations decreased the content of studied traits. By analyzing the essential oil of plant samples, the main compounds obtained from basil essential oil included geraniol, methyl chavicol, alphapinene, caryophyllene, citral, coupon, carvacrol, neral, linalool, and limonene. In most compounds, essential oil compounds and components were enhanced by increasing drought stress and spraying. The highest amount of essential oil in the stress condition up to the 50% flowering stage and sprayed with 2 mM ascorbic acid was obtained for methyl chavicol compound (33.76%).

Conclusion: Applying ascorbic acid increased basil growth under drought stress and created resistance in the plant. Therefore, due to the lack of water resources and the great need of plants for water, it is possible to create resistance to stress in plants by spraying non-toxic and essential elements on them.

Keywords: Ascorbic acid, essential oil, drought stress, plant dry weight, proline, *Ocimum basilicum* L.

تأثیر اسید آسکوربیک بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش کم آبی

معصومه مرادی[۱]، بهروز اسماعیل‌پور*[۲]، موسی ترابی گیگلو[۳] و مهسا احدزاده[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح سبزی‌ها، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

پست الکترونیک: E-mail: Behsmaiel@yahoo.com

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان زینتی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۱ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی از تیره نعنا و جنس Ocimum می‌باشد که گونه‌های زیادی دارد. در این بین گونه *O. basilicum* مهمترین گونه اقتصادی بوده و همانند سایر گیاهان خانواده نعنا منبع ترکیبات حلقوی و اسانس و نیز منبع غنی از ترکیبات فنلی (به‌ویژه رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) و فلاونوئیدها شناخته شده است. پیکره رویشی ریحان حاوی اسانس است. به‌طور کلی لینالول، متیل چاویکول، سیترال، اوژینول، سینئول، ژرانیول، کامفور و متیل سینامات از اجزاء مهم اسانس ریحان می‌باشد. تنش خشکی به‌عنوان مهمترین تنش غیرزیستی نقش مهمی در کاهش عملکرد گیاهان دارویی دارد و موجب بروز تغییرات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاه می‌شود. عملکرد ماده مؤثره تحت تأثیر عملکرد اقتصادی گیاه و شرایط محیطی ازجمله تنش خشکی می‌باشد. البته، اثرهای تنش در مراحل مختلف رشدونمو متفاوت است.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی تأثیر اسید آسکوربیک بر گیاه ریحان بومی شهر ری تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی، استان اردبیل (طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی با ارتفاع ۱۳۱۱ متری از سطح دریا) انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل سطوح خشکی در سه سطح (قطع آبیاری در مرحله شروع رشد زایشی، قطع آبیاری در ۵۰٪ گلدهی و آبیاری کامل) و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک در چهار غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) بر روی گیاه ریحان در نظر گرفته شد. عملیات مزرعه‌ای این آزمایش در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. عملیات آماده‌سازی بستر شامل شخم، دیسک و صاف کردن زمین قبل از اجرای آزمایش انجام شد و بعد اقدام به ایجاد کرت‌هایی به طول و عرض یک متر گردید. بذرها در سه خط با فواصل بوته‌ای ۱۵ سانتی‌متر کشت شد. برای پوشاندن بذرها، از کود دامی پوسیده در حدود ۴-۳ سانتی‌متر استفاده گردید. پس از تعیین بافت خاک به روش هیدرومتری، تیمارهای ذکر شده برای تنش اعمال گردید. روز ابتدایی آبیاری به‌صورت غرقابی انجام و پس از جوانه‌زنی حجم آبیاری کمتر شد. اندازه‌گیری کلیه صفات در آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی و تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد با افزایش شدت تنش خشکی صفات ارتفاع کل بوته، طول ساقه، تعداد برگ و وزن خشک بوته به‌ترتیب ۳۶/۰۸٪، ۳۹/۷۵٪، ۵۱/۲۶٪ و ۵۳/۸۰٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در صورتی که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک توانست این مقادیر را به

صورت معنی‌داری بهبود ببخشد. بیشترین میزان طول ریشه در شرایط تنش شدید (ابتدای گلدهی) و تیمار با اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار (۱۵/۸۳ سانتی‌متر) بدست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد حدود ۳۱/۹۱٪ افزایش نشان داد. شرایط تنش خشکی توانست میزان پرولین و اجزای اسانس را افزایش دهد. بیشترین میزان پرولین مربوط به شرایط تنش شدید و تیمار با اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار (۱۳۰/۸۲۵ $\mu mol.g^{-1}$ FW) بود که ۶ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد. میزان کلروفیل نیز در شرایط تنش شدید کاهش یافت. همچنین با اعمال تنش خشکی، در تمامی صفات مورد بررسی شاهد بیشترین مقدار، تیمار اسید آسکوربیک (غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) باعث افزایش و غلظت‌های بالاتر باعث کاهش مقدار صفات مورد بررسی شدند. با تجزیه اسانس نمونه‌های گیاهی، عمده‌ترین ترکیبات بدست آمده از اسانس ریحان شامل ژرانیول، متیل کاویکول، آلفا-پینن، کاریوفیلن، سیترال، کوپن، کارواکرول، نرال، لینالول و لیمونن بود. در بیشتر ترکیبات با افزایش میزان تنش خشکی و محلول‌پاشی بر میزان ترکیبات و اجزای اسانس افزوده شد. بیشترین میزان اسانس در شرایط تنش تا مرحله ۵۰٪ گلدهی و محلول‌پاشی با غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک برای ترکیب متیل کاویکول (۳۳/۸٪) بدست آمد.

نتیجه‌گیری: محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک باعث بهبود رشد گیاه ریحان در شرایط تنش خشکی شد و یک نوع مقاومت را در گیاه ایجاد کرد. بنابراین در زمان کنونی با توجه به کمبود منابع آبی و نیاز فراوان گیاهان به آب، می‌توان با محلول‌پاشی عناصر غیرسمّی و ضروری برای آنها موجب ایجاد مقاومت به تنش در گیاهان گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید آسکوربیک، اسانس، تنش خشکی، وزن خشک بوته، پرولین، ریحان (*Ocimum basilicum* L.).

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی از راسته Lamiales، تیره نعنا و جنس *Ocimum* است. این گیاه به سرما بسیار حساس است و در طول رویش به هوای گرم، نور و آب کافی نیاز دارد. به‌طوری که از بدو سبز شدن بذر تا برداشت پیکره رویشی به ۵۰۰ تا ۵۵۰ میلی‌متر بارندگی (آبیاری) و ۱۵۰۰ ساعت روشنایی نیاز دارد. آبیاری منظم در این گیاه لازم است و می‌توان از روش آبیاری قطره‌ای یا غرقابی استفاده کرد. عملکرد پیکره رویشی خشک ۱/۲ تا ۲ تن در هکتار (Omidbegi, 2000) و عملکرد پیکره رویشی تازه ۸ تا ۱۰ تن در هکتار است که در شرایط مساعد تا ۱۲ تن در هکتار نیز می‌رسد. عملکرد اسانس ۸ تا ۱۰ کیلوگرم و عملکرد بذر نیز ۶۰۰ تا ۸۰۰ کیلوگرم در هکتار است (Omidbegi, 2000).

تنش خشکی و کمبود آب قابل دسترس یکی از مهمترین عوامل کاهش محصولات کشاورزی، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا محسوب می‌شود، به‌طوری که تخمین زده‌اند سالانه ۴۵٪ از زمین‌های کشاورزی جهان در معرض کم‌آبی یا خشکسالی قرار دارند (Farooq *et al.*, 2009). در اثر کمبود آب حلالیت مواد مغذی گیاهی در خاک و انتشار مواد مورد نیاز گیاهان به سطح ریشه و به‌طور کلی جذب آنها توسط گیاهان کاهش می‌یابد. این تغییرات منجر به کاهش در تولید توده زیستی و متعاقباً عملکرد می‌شود (Payero *et al.*, 2009). گیاهان تحت تنش کمبود آب، روزنه‌های خود را می‌بندند تا مقدار هدر رفت آب را از طریق تعرق کاهش دهند (Hartung *et al.*, 1999). تنظیم اسمزی، به‌عنوان جزء مهمی از سازوکار تحمل تنش خشکی در گیاهان محسوب می‌شود (Zhang *et al.*, 1999) که موجب حفظ آماس سلول، ادامه طویل شدن سلول، باز نگه داشتن روزنه‌ها و ادامه فتوسنتز، بقاء در هنگام بروز پسابیدگی و گسترش بیشتر ریشه می‌شود. در میان ترکیب‌های آلی، پرولین یکی از مهمترین اسیدهای آمینه فعال در تنظیم اسمزی به‌شمار می‌رود (Reddy *et al.*, 2004) که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش بسزایی دارد (Rampino *et al.*, 2006). به‌طور کلی اثر کمبود آب بر روی رشد گیاه بستگی به شدت تنش و مرحله

رشد گیاه دارد (Aroca, 2012). کاهش میـزان عملکـرد بـر اثـر افـزایش خشکی مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح بـرگ و افـزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه اسـت (Sreevalli *et al.*, 2001).

اسید آسکوربیک یکی از ترکیباتی است که به فراوانی در گیاهان وجود دارد و دارای نقش‌های فیزیولوژیکی فراوانی است (Jubany-Marí *et al*., 2010). در فرایندهای فراوانی در رشدونمو، ازجمله به‌عنوان کوفاکتور در مسیر فتوسنتز نقش دارد (Zabalza *et al*., 2008). اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان کوچک قابل حل در آب، قادر به احیای یون‌های سوپراکسید رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن است، از این‌رو بهترین ترکیب شناخته شده‌ای است که تحمل به تنش اکسیداتیو را در گیاهان افزایش می‌دهد (Jubany-Marí *et al*., 2010). اسید آسکوربیک نقش مهمی در مسیر آسکوربات- گلوتاتیون و نیز حذف اکسیژن فعال در مسیر کلروپلاست و سیتوسول دارد (Ahmad *et al*., 2010؛ Rahal *et al*., 2014). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک می‌تواند مقاومت به تنش شوری را افزایش و سبب کاهش اثر تنش اکسیداتیو حاصل شود (Saffaryazdi *et al*., 2012). اسپری کردن اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان باعث افزایش تحمل به تنش شوری و کاهش اثرهای مضر کلرید کلسیم در گیاه سیاه‌دانه شده است (Ghorbanali *et al*., 2010). علاوه بر نقش جاروب کنندگی اسید آسکوربیک، این ماده در تنظیم ظرفیت فتوسنتزی از طریق فاکتور روزنه‌ای، گلدهی و پیری نقش دارد (Smirnoff, 2005).

با توجه به شرایط خشک و نیمه خشک کشور و کاهش نزولات آسمانی در طی سال‌های اخیر، ارائه راهکارهایی از قبیل محلول‌پاشی اسید اسکوربیک در جهت کاهش اثرهای تنش خشکی و توانمندسازی گیاهان در شرایط مواجه با این تنش غیرزیستی از اهداف این پژوهش است. ریحان به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنلی (به‌ویژه رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) و فلاونوئیدها شناخته شده است. رزمارینیک اسید در برگ‌ها و شاخساره گیاه تولید می‌شود، اما به مقدار زیاد می‌تواند در ریشه‌ها تجمع پیدا کند. پیکره رویشی ریحان حاوی اسانس است. مقدار اسانس گیاه ریحان با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش، بین ۰/۵٪ تا ۱/۵٪ متغیر است. به‌طور کلی لینالول، متیل کاویکول، سیترال، اوژنول، سینئول، ژرانیول، کامفور و متیل سینامات از اجزاء مهم اسانس ریحان بوده و در بازارهای جهانی اسانس، عطر، دارو و صنایع غذایی مبادله می‌شوند. ریحان همانند سایر گیاهان خانواده نعنا منبع ترکیبات حلقوی و اسانس است که دافع حشرات بوده و عملکرد ضد انگلی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی دارد. به‌طور معمول کاربردهایی از قبیل درمان دل درد، رفع یبوست، رفع کم‌خونی، ممانعت از افسردگی، جلوگیری از تهوع و افزاینده شیر مادر دارد (Juliani *et al*., 2002).

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی (طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی با ارتفاع ۱۳۱۱ متری از سطح دریا) در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل سطوح خشکی در سه سطح (قطع آبیاری در مرحله شروع رشد زایشی، قطع آبیاری در ۵۰ ٪ گلدهی و آبیاری کامل) و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک در چهار غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) در سه مرحله (در فواصل یک هفته‌ای بعد از اعمال تنش) بر روی گیاه ریحان اعمال شد. بذر ریحان در این آزمایش، از شرکت پاکان بذر اصفهان و اسید آسکوربیک نیز از شرکت مرک تهیه گردید. مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک در آزمایشگاه خاک دانشگاه محقق اردبیلی انجام و بافت خاک لومی- رسی تشخیص داده شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش

Table1. Physicochemical characteristics of the experimental soil

Properties	Soil
Organic matter	0.91
Total nitrogen (%)	0.014
Available phosphorus (%)	0.08
Available K (%)	0.03
Fe (ppm)	11.48
Mn (ppm)	10
Zn (ppm)	3.5
Cu (ppm)	0.82
PH	8
EC ($ds.m^{-1}$)	0.16
Clay	%40
Sand	%35
Silt	%28
Loam	%45

عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، دیسک و صاف کردن زمین قبل از اجرای آزمایش انجام شد. پس از آماده‌سازی زمین اقدام به ایجاد کرت‌هایی به طول و عرض یک متر گردید. بذرها در سه خط با فواصل بوته‌های ۱۵ سانتی‌متر و تعداد ۷ بوته در هر کرت کشت شد. از کود دامی در حدود ۴-۳ سانتی‌متر برای پوشاندن بذرها استفاده شد و بذرها برای آبیاری و مراحل بعدی آماده شدند. روز ابتدایی آبیاری به‌صورت غرقابی انجام گردید. بعد از ظهور گیاهچه در سطح خاک، حجم آبیاری کمتر شد. در طول دوره رشد و نمو، عملیات وجین و تنک‌سازی بوته‌ها انجام شد، به‌طوری که در هر کرت تعداد ۴ بوته باقی ماند.

آبیاری تیمار شاهد و تیمارهای قطع آبیاری تا قبل از اعمال قطع آبیاری، پس از تخلیه ۵۰٪ رطوبت قابل استفاده خاک انجام شده است، به‌طوری که پس از فرارسیدن موعد آبیاری در هر یک از تیمارهای مورد آزمایش، با توجه به رطوبت موجود در خاک، مقدار آب مورد نیاز براساس روابط ۱ و ۲ (Farsh *et al*., 2003) برآورد و بعد با استفاده از سیستم تیپ مقدار آب محاسبه شده به‌طور یکنواخت وارد کرت‌های آزمایشی شد.

$$WMC\ (\%) = \left(\frac{FSW - DSW}{DSW}\right) * 100 \qquad \text{رابطه ۱}$$

که در آن WMC مقدار رطوبت محتوای خاک، FSW وزن خاک تر و DSW وزن خاک خشک است. پس از تعیین میزان رطوبت وزنی خاک با استفاده از رابطه ۲ مقدار آب مورد نیاز برای حصول ظرفیت زراعی برآورد شد.

$$Is = \left(\frac{(FC - AW) * Bd * D}{100}\right) \qquad \text{رابطه ۲}$$

که در آن Is عمق آب برای حصول ظرفیت زراعی (سانتی‌متر)، FC حد ظرفیت زراعی (۳۱/۶٪)، Bd وزن مخصوص ظاهری خاک (۱/۴۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، AW درصد رطوبت وزنی خاک قبل از آبیاری و D عمق توسعه ریشه (متر) است. پس از تعیین عمق آب آبیاری از رابطه بالا، با توجه به مساحت هر کرت حجم آب لازم برای آبیاری برآورد و بعد با استفاده از سیستم نوار تیپ اعمال شد. در طول این مدت صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری و ثبت شد.

در طی این پژوهش ارتفاع بوته در پایان دوره رشد از محل طوقه تا انتهای شاخه گل‌دهنده بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. بعد از اینکه بوته از خاک خارج شد، ریشه از محل طوقه جدا گردید، پس از شست‌وشو، طول ریشه بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. تعداد برگ در روی هر بوته در پایان دوره رشد، شمارش شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ، در پایان دوره رشد و پس از جدا کردن برگهای میانی و توسعه یافته هر بوته، سطح برگ به‌وسیله دستگاه سطح‌سنج (Leaf area meter) مدل ΔT ساخت انگلستان اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک بوته، تعداد سه بوته از ارتفاع

۳-۴ سانتی‌متری سطح خاک برداشت شد. وزن تر بخش هوایی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد، سپس اندام هوایی هر کرت درون پاکت‌هایی به‌طور جداگانه در داخل آون در دمای ۷۸ درجه سانتی گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. توزین بوته‌های خشک شده به‌وسیله آون نیز با دقت ۰/۰۰۱ گرم انجام شد. برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید به‌عنوان یکی از عواملی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد از روش Arnon (۱۹۴۹) استفاده شد. برای این منظور، مقدار ۰/۱ گرم از بافت برگ با استون ۸۰ ٪ ساییده شد تا کلروفیل وارد محلول استونی شود و در نهایت حجم محلول با استون ۸۰ ٪ به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد و در نهایت عصاره استونی شفاف را جدا کرده و پس از نیم ساعت تاریکی مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقدار کلروفیل طبق روابط زیر بدست آمد. V حجم نهایی استون و W وزن تر نمونه بر حسب گرم است.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645})\ V/100W$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663})\ V/100W$$

$$\text{Carotenoides} = 100(A470) + 3.27(\text{mg chl.A}) - 104(\text{mg chl.B})/227$$

برای تعیین میزان پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد و به کمک رسم منحنی استاندارد غلظت پرولین از رابطه زیر تعیین و بر حسب میکروگرم بر گرم محاسبه شد.

$$\text{پرولین } (\mu mol/gFw) = [\mu g \text{ پرولین} / ml \times ml \text{ تولوئن} / 115/5\ \mu g / \mu mol)\ ] / [(g \text{ نمونه}) / 5)]$$

برای استخراج اسانس، از روش تقطیر با دستگاه کلونجر استفاده شد. برای انجام این کار، مقدار ۵۰ گرم از نمونه گیاهی خشک شده در بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و روی دستگاه کلونجر قرار داده شد. پس از رسیدن به نقطه جوش، به مدت ۳ ساعت جوشانده شد. در این مدت ترکیبات فرار همراه با بخار آب خارج شده و بعد از سرد شدن چون اسانس سبک تر از آب است، به‌صورت لایه‌ای روی سطح آب در لوله مدرج قرار گرفت، سپس با استفاده از شیر انتهای لوله مدرج ابتدا آب و بعد اسانس خارج شد و در ظرف نگهداری ریخته شد. اسانس بدست آمده از دستگاه کلونجر در میکروتیوپ‌های شیشه‌ای وارد شد. پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون DB-5، برای دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌های حاصل با دی کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) تزریق شده و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوط بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، اندیس بازداری کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها مورد شناسایی کمّی و کیفی قرار گرفت. برای محاسبه اندیس‌های بازداری از تزریق هیدروکربن‌های نرمال ۹ تا ۲۲ کربنه، در شرایط برنامه‌ریزی حرارتی ستون (مشابه با تزریق نمونه) استفاده شد.

داده‌های بدست آمده با نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه آماری شد و میانگین‌های بدست آمده به‌وسیله آزمون دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

نتایج

تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی بر صفات مورفولوژیک گیاه ریحان

ارتفاع کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرهای اصلی خشکی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۱٪ و اثر برهم‌کنش تنش خشکی و محلول پاشی با اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۵٪ بر روی صفت ارتفاع بوته معنی‌دار بود (جدول ۲). کمترین ارتفاع بوته به‌ترتیب به تیمار تنش خشکی شدید و شرایط بدون محلول‌پاشی (۵۱/۶۶ سانتی‌متر) و بیشترین ارتفاع بوته به تیمار شاهد و گیاهان محلول‌پاشی شده با اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار (۸۴ سانتی‌متر) تعلق داشت.

در شرایط تنش خشکی شدید نیز بیشترین ارتفاع بوته (۶۷/۱۶ سانتی‌متر) برای گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و کمترین ارتفاع بوته (۵۱/۶۶ سانتی‌متر) در گیاهان محلول‌پاشی نشده حاصل شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین صفات (جدول ۳)، مشاهده شد که با افزایش تنش خشکی از ارتفاع بوته کاسته شده و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک توانسته است اثر تنش خشکی را در کاهش ارتفاع بوته تعدیل نماید.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر صفات مورفولوژیک ریحان در شرایط تنش خشکی

Table 2. ANOVA of Ascorbic acid Foliar Spraying on Morphological Traits of *Ocimum basilicum* under Drought Stress Conditions

Source of Variations	D.F.	Plant Height (cm)	Root Length (cm)	Stem Lengh (cm)	Leaf Area (cm^2)	Number of Leaves	Plant Dry Weight (g)	Plant Fresh Weight (g)
Replication		12.22	12.56	22.1	0.00055	252.34	5.85	6.85
Droght Stress	2	2390.68**	120.36**	15.36.26**	0.00099^{ns}	38906.34**	202.90**	691.12**
Ascorbic acid Foliar Spray (A)	6	139.12**	8.35**	101.09**	0.00066^{ns}	10533.60**	55.48**	63.67**
Droght Stress× Foliar Spraying	12	31.84*	8.22*	47.5*	0.00084^{ns}	5334.95**	3.31*	1.07^{ns}
Experimental Error	40	13.98	1.38	14.46	0.0007	248.87	1.64	4.57
C.V. (%)		5.12	8.68	6.39	21.45	17.13	9.57	6.25

ns, *, and **: non-significant, significant at 5%, and 1% probability levels, respectively

طول ساقه و ریشه

طبق نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۲) مشاهده شد که اثر محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک بر طول ساقه و ریشه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. همچنین اثرهای برهم‌کنش تنش خشکی و باکتری بر طول ساقه و ریشه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی طول ساقه کاهش (۳۹/۶۶ سانتی‌متر) و طول ریشه (۱۵/۸۳ سانتی‌متر) افزایش یافت. محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار در شرایط تنش شدید توانست طول ساقه را تا ۵۶/۶۶ سانتی‌متر افزایش دهد.

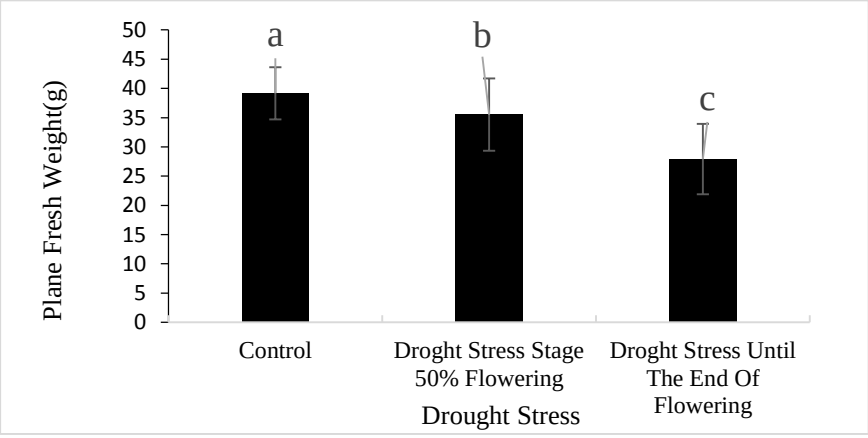
تعداد برگ

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) دامنه تغییرات در تعداد برگ نیز متفاوت بود، به‌طوری که با افزایش میزان تنش از تعداد برگ کاسته شده، به‌نحوی که بیشترین و کمترین تعداد برگ به‌ترتیب مربوط به غلظت ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک (۱۲۳/۶۷) در شرایط آبیاری کامل و غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک (۲۸/۶۷) تحت تنش شدید آبی بود (جدول ۳). محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار باعث بهبود شرایط ذکرشده گردید.

وزن تر و خشک بوته

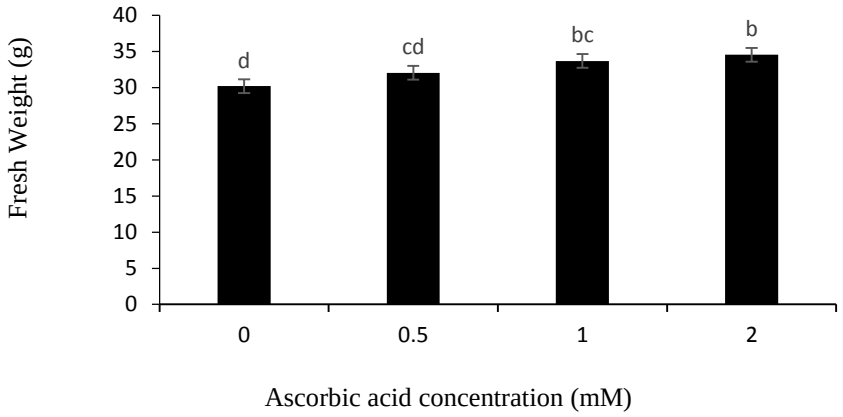
اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک بر وزن تر و خشک بوته در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین، اثر برهم‌کنش محلول پاشی با اسید آسکوربیک و تنش خشکی فقط بر روی صفت وزن خشک بوته در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بدست آمد، در صورتی که بر روی صفت وزن تر بوته اثر معنی‌داری نداشت.

تنش خشکی باعث کاهش وزن خشک بوته شد و بیشترین وزن خشک بوته در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک (۱۵۳ گرم) و کمترین وزن نیز مربوط به شرایط تنش شدید (ابتدای گلدهی) و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک با غلظت ۲ میلی‌مولار (۶۹/۶۷ گرم) بود. در تنش تا ۵۰٪ مرحله گلدهی محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۲ میلی‌مولار نسبت به همین میزان غلظت در شرایط آبیاری کامل، سبب افزایش میزان وزن خشک گیاه شد. شواهد نشان داد که در شرایط تنش از ابتدای گلدهی، شاهد بیشترین وزن را داشت (۱۲۲ گرم) و محلول‌پاشی تأثیری بر روی وزن خشک نداشت و باعث کاهش این صفت شد. تغییرات وزن تر نیز با افزایش تنش میزان وزن تر بوته کاهش یافت و شاهد بیشترین وزن تر (۳۰/۲۲ گرم) را داشت (جدول ۳).



شکل ۱- اثر تنش خشکی بر وزن تر گیاهان ریحان

Figure 1. The effect of drought stress on fresh weight of *Ocimum basilicum*
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



شکل ۲- اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر وزن تر گیاهان ریحان

Figure 2. The effect of Ascorbic acid foliar spraying on fresh weight of *Ocimum basilicum*
Means with common letters are in the same statistical level.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر شاخص‌های رشد ریحان

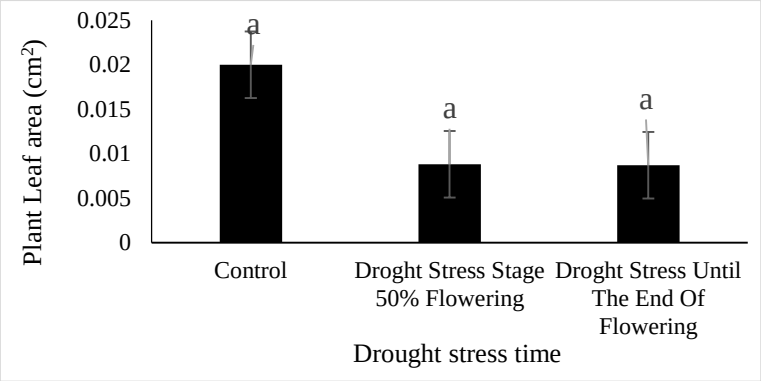
Table 3. Means comparison of drought stress × ascorbic acid foliar spray interactions on growth parameters of *Ocimum basilicum*

Drought stress	Ascorbic acid foliar spray concentration (mM)	Total plant height (cm)	Root Length (cm)	Stem Lengh (cm)	Number of Leaves	Plant Dry Weight (g)
Full irrigation	0	80.83^{a-d}	12.00^{c-g}	65.83^{abc}	58.83^{ef}	150.83^{a}
	0.5	77.08^{a-e}	9.83^{g}	63.08^{a-d}	73.33^{e}	153.00^{a}
	1	84.00^{abc}	11.83^{c-g}	68.16^{ab}	123.67^{d}	104.83^{c-f}
	2	81.16^{a-d}	10.50^{fg}	66.66^{ab}	112.67^{d}	103.00^{c-g}
Irrigation Cut –Off at 50%Flowering	0	70.00^{a-f}	13.83^{b-g}	56.16^{b-e}	61.83^{f-h}	148.83^{ab}
	0.5	72.33^{a-e}	14.50^{b-f}	57.83^{a-d}	74.00^{e}	116.17^{bcd}
	1	69.16^{b-f}	11.33^{e-g}	57.83^{a-d}	118.17^{d}	80.83^{efg}
	2	66.66^{c-f}	14.50^{b-f}	52.16^{b-e}	68.67^{e}	114.17^{cde}
Irrigation Cut –Off at Beginning of Flowering	0	51.66^{f}	15.00^{b-e}	39.66^{e}	61.50^{ef}	122.00^{abc}
	0.5	59.83^{ef}	14.00^{b-g}	49.66^{cde}	50.83^{ef}	89.67^{c-g}
	1	59.33^{ef}	15.83^{bc}	47.50^{de}	47.33^{ef}	76.00^{fgh}
	2	67.16^{c-f}	14.50^{b-f}	56.66^{a-d}	28.67^{fg}	69.67^{gh}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

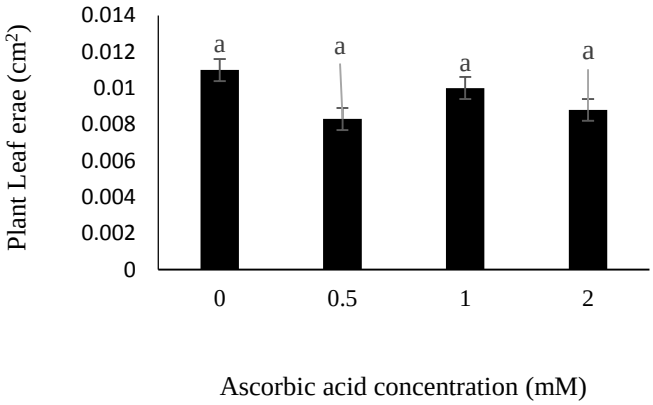
سطح برگ

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) تأثیر تیمارهای خشکی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک (شکل‌های ۳ و ۴) نشان داد که تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک تأثیر معنی‌داری بر روی صفت سطح برگ نداشت و تمامی تیمارها در شرایط مساوی بودند.



شکل ۳- اثر تنش خشکی بر سطح برگ گیاهان ریحان

Figure 3. The effect of drought stress on leaf area of *Ocimum basilicum*
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).



شکل ۴- اثر محلول پاشی اسیدآسکوربیک بر سطح برگ گیاهان ریحان

Figure 4. The effect of Ascorbic acid foliar spraying on leaf area of *Ocimum basilicum*
Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی بر صفات فیزیولوژیک گیاه ریحان

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) بر شاخص‌های فیزیولوژیک ریحان (جدول ۳) نشان داد که تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک بر صفات میزان پرولین، کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، در حالی که اثرهای برهم‌کنش تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک تنها بر روی میزان پرولین برگ معنی‌دار بدست آمد.

نتایج مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی بر صفات فیزیولوژیک گیاه ریحان

پرولین

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۴)، با افزایش شدت تنش بر میزان پرولین افزوده شد، به‌طوری که بیشترین میزان پرولین در شرایط تنش شدید مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک (۱۳۰/۸۲۵) و کمترین میزان مربوط به شرایط آبیاری کامل و بدون تلقیح با اسید آسکوربیک بود (جدول ۵).

جدول ۴- مقایسه تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی اسیدآسکوربیک بر شاخص‌های فیزیولوژیک رشد ریحان در شرایط تنش خشکی

Table 4. Analysis of variance of the effect of Ascorbic acid foliar spraying on physiological growth parameters of *Ocimum basilicum* in droght stress coindition

Source of variations	df	Proline (µmol.g $^{-1}$ FW)	Chlorophyll a (mg/g/fw)	Chlorophyll b (mg/g/fw)	Total Chlorophyll (mg/g/fw)	Carotenoid (mg/g/fw)
Replicaion		164578.25 ^{ns}	0.0000005 ^{ns}	.000000007 ^{ns}	0.0000045 ^{ns}	0.00026 ^{ns}
Droght stress	2	9883564.3**	0.00013**	0.000008**	0.00020**	0.0242**
Foliar sprayin	6	1135418.3**	0.000023**	0.0000012**	0.000035**	0.0041**
Droght stress × Foliar sprayin	12	1223048.15**	0.00000045^{ns}	0.00000001^{ns}	0.00000047^{ns}	0.00024^{ns}
Errors	40	124380.15	0.0000003	0.00000005	0.0000003	0.00019
C.V. (%)		8.14	6.70	10.20	5.61	11.82

ns. and **: not significant and significant at 1% probability level, respectively

جدول ۵- مقایسه میانگین تأثیر برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدآسکوربیک بر شاخص‌های فیزیولوژیک ریحان

Table 5. Mean Comparison of the interaction of drought stress and Ascorbic acid foliar spraying on physiological growth parameters of *Ocimum basilicum*

Treatments	Ascorbic acid concentration (mM)	Proline (µmol.g $^{-1}$ FW)
Full irrigation	0	18.808^{o}
	0.5	20.295^{o}
	1	30.132^{mno}
	2	36.615^{lmn}
Irrigation cut -off at 50% flowering	0	48.537^{jkl}
	0.5	51.452 ^{jk}
	1	61.960^{hij}
	2	74.053^{hg}
Irrigation cut -off at beginning of flowering	0	85.09^{fg}
	0.5	97.580^{fe}
	1	130.825^{dc}
	2	150.825^{ab}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan, α=0.05)

کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید

مطابق نتایج مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ (جدول ۶)، با افزایش شدت تنش، کلروفیل کاهش یافته و بیشترین مقدار مشاهده شده برای شاهد بدست آمد. در اثر محلول‌پاشی از اثرهای تنش کاسته شد، به‌طوری که با افزایش میزان غلظت اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل افزوده شد.

جدول ۶- مقایسه میانگین تأثیر برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدآسکوربیک بر شاخص‌های فیزیولوژیک ریحان
Table 5. Mean Comparison of the interaction of drought stress and Ascorbic acid foliar spraying on physiological growth parameters of *Ocimum basilicum*

Treatments	Level	Chlorophyll a (mg/g/fw)	Chlorophyll b (mg/g/fw)	Total Chlorophyll (mg/g/fw)	Carotenoid (mg/g/fw)
Drought stres	Full irrigation	0.011[a]	0.0028[a]	0.013[a]	0.149[a]
	Irrigation cut -off at 50% offlowering stage	0.0092[b]	0.0021[b]	0.011[b]	0.119[b]
	Irrigation cut -off at beginning of flowering	0.0061[c]	0.0015[c]	0.007[c]	0.081[c]
Ascorbic acid concentration (mM)	0	0.0066[e]	0.0017[e]	0.0083[f]	0.089[e]
	0.5	0.0072[d]	0.0018[e]	0.0091[e]	0.095[ed]
	1	0.0087[c]	0.0021[cd]	0.0108[d]	0.115[c]

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level(Duncan, α=0.05)

در گیاهان محلول‌پاشی شده با اسید آسکوربیک بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به‌ترتیب در غلظت ۲ میلی‌مولار و غلظت ۰/۵ بدست آمد. در صفت کلروفیل b نیز با افزایش تنش از میزان این صفت کاسته شد اما محلول‌پاشی باعث کاهش اثر تنش خشکی شد. تنش خشکی باعث تغییراتی در میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها نیز شده، به این صورت که با افزایش تنش از میزان هر دو کاسته شد اما در اثر محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک مقدار هر دو بیشتر شده و بیشترین میزان کاروتنوئید مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک بود (جدول ۶).

نتایج تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر اجزای اسانس ریحان

با تجزیه اسانس گیاهی، حدود ۴۳ ترکیب شناسایی شد. در مورد بیشتر ترکیبات با افزایش تنش بر میزان آنها افزوده شده و محلول‌پاشی نیز در افزایش این ترکیبات سهیم بود. به‌طور کلی با افزایش تنش بر میزان ژرانیول افزوده شد و بیشترین میزان مربوط به شرایط تنش تا ۵۰ ٪ مرحله گلدهی و محلول‌پاشی با غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک بود (۱۲/۶٪). در متیل کاویکول، کارواکرول و نرال نیز بیشترین میزان در شرایط تنش تا ۵۰ ٪ گلدهی، برای متیل کاویکول (۳۳/۸٪) و ۰/۵ میلی‌مولار برای کارواکرول (۷/۱٪) و نرال (۱۳/۲٪) بدست آمد. در شرایط آبیاری کامل و غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و بدون تلقیح (شاهد) آلفا-پینن و لینالول به‌ترتیب ۱/۶٪ و ۰/۶٪ بیشترین درصد را داشتند. براساس جدول ۶ با افزایش تنش خشکی میزان ترکیب کاریوفیلن افزایش یافته و بیشترین میزان ترکیب کاریوفیلن (۱۶/۲٪) در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و تحت شرایط قطع آبیاری در ابتدای گلدهی تولید شد. افزایش تنش خشکی میزان ترکیب سیترال را افزایش داد و بیشترین مقدار آن (۱۷/۵٪) در گیاهان محلول‌پاشی شده با غلظت یک میلی‌مولار اسید آسکوربیک و در شرایط قطع آبیاری در ابتدای گلدهی بود. بررسی‌ها نشان‌دهنده آن است که بیشترین درصد ترکیب، ترکیب کوپن در اسانس ریحان در شرایط بدون محلول‌پاشی (شاهد) و تنش تا ۵۰٪ گلدهی می‌باشد. طبق نتایج جدول ۶ بیشترین میزان بدست آمده از ترکیب لیمونن برای غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک تحت تنش تا ابتدای مرحله زایشی (تنش شدید) بود و کمترین مقدار (۱۰٪) نیز برای غلظت ۲ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در شرایط آبیاری کامل بدست آمد (جدول ۷).

جدول ۷- تاثیرتنش خشکی و محلول پاشی با اسید آسکوربیک بر ترکیبات اسانس ریحان

Table 7. The effect of drought stress and foliar spraying of Ascorbic acid and Selenium on *Ocimum basilicum* essential oil compounds

Percentage (%)

Drought stress	Ascorbic acid **(**mM)	**geraniol**	**methyl chavicol**	**α-pinene**	**caryophyllene**	**citral**	**copaene**	**carvacrol**	**neral**	**linalool**	**limonene**
Full irrigation	0	4.8	13.3	1.2	3.5	10.0	-	-	8.9	0.6	0.1
	0.5	6.0	19. 7	-	7.4	10.7	0.6	-	9. 5	0.2	0.2
	1	10.4	13.2	0.2	7.8	10.0	-	-	10.2	0.1	0.2
	2	12.3	26.8	1.6	8.0	11.8	-	-	11.7	0.1	0.1
Irrigation cut - off at 50% flowering	0	5.7	22.0	0.1	7.4	16.0	0.8	-	9.5	-	-
	0.5	7.7	33.8	-	9.1	13.7	0.6	1.3	11.2	0.2	0.2
	1	7.3	28.9	1.0	10.8	13.5	-	7.1	13.2	0.2	0.2
	2	12.6	32.6	-	10.0	13.8	-	-	11.1	-	-
Irrigation cut - off at beginning of flowering	0	6.0	14.3	-	9.5	13. 5	-	-	7.0	0.3	0.2
	0.5	6.5	12.5	0.2	12.1	16.0	-	-	8.0	-	0.2
	1	11.1	12.3	-	11.5	17.5	-	-	10.8	0.2	0.2
	2	10.6	18.6	-	16.2	15.5	-	-	9.5	0.3	0.2

بحث

تمامی گیاهان در طول دوره رشد خود تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند، اگر این تنش طولانی یا شدت آن زیاد باشد سوخت‌وساز آنها نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد که موجب کاهش یا از دست دادن کامل عملکرد می‌شود. یکی از عمده‌ترین عوامل ایجاد اختلال در بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ازجمله فتوسنتز، تعادل عناصر غذایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌ها که باعث کاهش رشد و نمو گیاه می‌شود، کمبود آب و تنش خشکی است. با توجه به شرایط خشک و نیمه خشک ایران و مشکل کمبود آب، استفاده بهینه از آب و راه‌های کاهش اثر تنش خشکی، در بخش کشاورزی موضوعی بسیار مهم و ضروریست می‌باشد (Khan *et al.*, 2012). از مهمترین سازگاری‌های فیزیولوژیکی، تنظیم اسمزی است که با تجمع ترکیبات آلی و غیرآلی در سلول، سبب کاهش ظرفیت آب شده و امکان جذب آب را از مناطق کم آب برای گیاه فراهم می‌کند (Ashraf, 2010). با وجوداین، بسیاری از گیاهان از طریق سازوکارهای داخلی توان مقابله با شرایط تنش را ندارند، بنابراین از طریق بکار بردن برخی ترکیبات خارجی روی گیاه سبب ایجاد توانایی مقابله با این شرایط در گیاه می‌شوند. ازجمله این ترکیبات می‌توان اسمولیت‌های آلی، هورمون‌های گیاهی و مواد معدنی را نام برد (Ali *et al.*, 2007). اسید آسکوربیک به‌عنوان ویتامین c، یک متابولیت ثانویه، هورمونی گیاهی و آنتی‌اکسیدان محلول در آب می‌باشد که به‌عنوان یک سوبسترای اولیه در چرخه سمّیت‌زدایی پراکسیدهیدروژن، تقسیم سلولی و دیگر فرایندهای رشد و نموی نقش دارد. وجود میزان کمی از آن در برگ‌ها سبب افزایش تحمل گیاه به تنش می‌شود (Ashraf, 2010؛ Hasanuzzaman *et al.*, 2012). استفاده از اسید آسکوربیک به‌صورت محلول‌پاشی برگی سبب جذب آن از طریق روزنه‌ها شده، بنابراین کاربرد خارجی آن موجب افزایش غلظت داخلی آن و بهبود رشد گیاهان تحت شرایط تنش می‌شود (Mukhtar *et al.*, 2016). براساس نتایج بدست آمده، با افزایش تنش خشکی کلیه صفات رویشی روند کاهشی داشتند و بیشترین میزان کاهش مربوط به شرایط تنش شدید و قطع آبیاری در مرحله رشد زایشی بود. مصرف خارجی اسید آسکوربیک سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی و کاهش اثر مضر تنش‌های اکسیداتیو می شود (Shalata & Neumann, 2001). Arabi و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تنش خشکی سبب کاهش عملکرد و خصوصیات مرفولوژیک گیاه آنیسون (*pimpinella anisum* L.) شد. Babaee و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثر تنش بر روی آویشن، بیان کردند که تنش خشکی بر هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز تأثیر منفی داشته و سبب کاهش عملکرد و ماده خشک تولیدی گردید. Farahvash و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که اعمال تنش خشکی در گیاه آفتابگردان سبب کاهش عملکرد دانه و افزایش درصد پوکی آنها شد. Hsiao و kang (۲۰۰۰) در گزارشی بیان کردند که دلیل کاهش سطح برگ در شرایط تنش خشکی به علت کاهش انعطاف‌پذیری دیواره یاخته‌های برگ بر اثر کاهش ظرفیت آب گیاه است. Mazinani و همکاران (۲۰۱۳) با مطالعه بر روی *Tritium boeotium* نشان دادند، ارتفاع بوته تحت تنش خشکی کاهش معنی‌داری داشت. میزان پرولین، محتوای کلروفیل و طول ریشه تحت تنش خشکی افزایش یافت. به‌طور کلی براساس نتایج گیاه مرزه با بکارگیری سازوکارهای دفاعی از قبیل کاهش ارتفاع گیاه و کاهش سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی گیاه و از سوی دیگر با افزایش طول ریشه، میزان پرولین و کلروفیل در مقابل تنش خشکی تا حدی مقاومت می‌کند. Selahvarzi و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که میزان کلروفیل a/b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با کاربرد اسید آسکوربیک افزایش می‌یابد. همچنین با مطالعه روی ریحان نشان دادند که با افزایش تنش خشکی، وزن تر بوته کاهش می‌یابد. تنش کم آبی سبب افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست شده و تخریب مولکول کلروفیل و غشاء کلروپلاست را در پی دارد که خود منجر به کاهش فتوسنتز و رشد می‌شود. در گیاهان تنش‌دیده کاهش معنی‌داری در محتوی کلروفیل کل و کلروفیل a مشاهده شد.

در چنین شرایطی مولکول کلروفیل به یک عامل فوتودینامیک برای کاهش اثر مخرب نیاز دارد (Takamiya *et al*., 2000) در غیر این صورت، تخریب کلروفیل توسط گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد. اسید آسکوربیک به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل جلوگیری کرده و به طور غیر مستقیم سبب افزایش آن شد.

با توجه به اینکه اسید آسکوربیک از فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش برخوردار است، بنابراین کاهش میزان تخریب کلروفیل دور از انتظار نیست (Ashraf, 2009). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک هم در شرایط مطلوب و هم در شرایط تنش خشکی می‌تواند از کاهش میزان کاروتنوئیدها جلوگیری کند (Khalid Hussein & Qader Khursheed, 2014).

در شرایط تنش شدید خشکی، محلول‌پاشی اسید آسکوربیک از بیوسنتز پرولین اضافی جلوگیری می‌کند، اما در شرایط تنش ملایم، سازوکار افزایش پرولین به‌منظور حذف گونه‌های فعال اکسیژن (Dolatabadian *et al*., 2008) است. با توجه به این روند می‌توان چنین بیان کرد که افزایش غلظت محلول‌پاشی اسید آسکوربیک تا حدودی به افزایش تحمل گیاه به تنش کمک کرده و بدین ترتیب گیاه از افزایش میزان سنتز پرولین کاسته و احتمالاً از سازوکارهای دیگری برای کاهش اثر سوء خشکی استفاده کرده است. در برخی گزارش‌ها به افزایش میزان پرولین در اثر مصرف اسید آسکوربیک اشاره شده است (Khalid Hussein & Qader Khursheed, 2014).

تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخه فرعی، وزن تر و درصد اسانس داشت و ارقام پاسخ فیزیولوژیکی متفاوتی به خشکی داشتند (Narimani *et al*., 2017). تنش خشکی در طول دوره رشد سبب کاهش سطح برگ شد و کاهش سطح برگ در اثر تنش کم آبی دلیل اصلی کاهش عملکرد می‌باشد (Aghlmand *et al*., 2016). بررسی اثر تنش خشکی بر شاخص‌های رشد بادرنجبویه نشان داد که تنش خشکی بر شاخص سطح برگ، ماده خشک، سرعت رشد گیاه و سرعت رشد نسبی و درصد و عملکرد اسانس گیاه مؤثر است (Ardakani *et al*., 2007). کاهش در توسعه برگ در اثر تنش خشکی سبب کاهش فتوسنتز می‌شود، صدمه به دستگاه فتوسنتزی پیری برگ‌ها را به جلو می‌اندازد و باعث ریزش آنها می‌شود و باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Wahid & Rasul, 2005). محدود شدن طول ساقه‌های جانبی در شرایط تنش خشکی را می‌توان به‌عنوان سازوکار سازگاری در نظر گرفت، زیرا در مواقع بحرانی مانند کم‌آبی، گیاه تلاش می‌کند رشد رویشی خود را سریع‌تر تمام کرده تا به مرحله زایشی و گلدهی برسد تا بقای نسل خود را حفظ کند. همچنین، وقتی گیاه با تنش خشکی مواجه می‌شود ریشه یکی از اندام‌هایی است که شروع به گسترش می‌کند تا سطح جذب کننده گیاه را افزایش دهد، در نتیجه هر چه طول ریشه گسترش می‌یابد قدرت جذب آب افزایش یافته و اثر تنش خشکی کم می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که با تنش خشکی از میزان صفات مورفولوژیک کاسته می‌شود اما در اثر محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک بر میزان آنها افزوده می‌شود. وزن خشک اندام‌های هوایی همبستگی معنی‌داری با طول ساقه، تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ و نیز دوام و سطح برگ دارد، از این‌رو به اثرهای تنش خشکی بر کاهش رشد و توسعه برگ و سطح برگ حتی در کاهش بسیار کم رطوبت می‌توان اشاره کرد و قبل از اینکه فتوسنتز کاهش یابد تحت تأثیر قرار می‌گیرند، در واقع مهمترین حساسیت سلول به خشکی، کاهش قابل توجه در رشد برگ و کاهش سطح برگ می‌باشد که با کاهش سطح برگ فتوسنتز و عملکرد بیولوژیک گیاه کاهش می‌یابد (Fathi & Tari, 2016). Hong-Bo Shao و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که خشکی باعث کاهش جذب عناصر و کاهش رشد برگ می‌شود. با کاهش سطح برگ، سطح تعرق کاهش یافته که این اولین سازوکار برای مقابله با تنش خشکی می‌باشد. کاهش سطح برگ باعث کاهش میزان فتوسنتز و به دنبال آن باعث کاهش در میزان عملکرد و میزان ماده خشک گیاه می‌شود.

مولکول‌های کلروفیل نوع a و b، در کنار کاروتنوئیدها (کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) مهمترین رنگیزه‌های جذب‌کننده نور در گیاهان عالی هستند و حضور آنها برای تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی ذخیره شده در ناقل‌های الکترون، ضروریست (Taiz & Zeiger, 2006). براساس نتایج آزمایش، با افزایش شدت تنش خشکی میزان کلروفیل a/b کاهش و میزان کلروفیل کل نیز کاهش یافت که با نتایج سایر محققان مطابقت داشت. بررسی اثر تنش خشکی بر ریحان (Hassani & Omidbaigi, 2002) و نعنا (Mishra & Singh, 2010) نشان داده شد که همزمان با تنش خشکی محتوای کلروفیل کاهش پیدا می‌کند. Farhoudi (۲۰۱۷) بیان کرد که تنش خشکی سبب کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در میزان هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی و کاهش کلروفیل می‌شود و به‌دنبال آن موجب کاهش عملکرد کاسنی و بابونه آلمانی گردید. Ebrahimi و همکاران (۲۰۱۷) با مطالعه بر روی صفات فیزیولوژیک گیاه همیشه‌بهار نشان دادند که تنش خشکی علاوه بر خسارت به غشاء سلولی، کارایی فتوسیستم II و عملکرد گیاه را کاهش داد. براساس نتایج Pradhan و همکاران (۲۰۱۱)، تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل گونه *Aegilops sp* شد که نتایج پژوهش ما با نتایج آزمایش‌های ذکرشده مطابقت دارد. در اثر اسید آسکوربیک بر روی گیاهان مشخص شد که در شرایط تنش خشکی از میزان کلروفیل a/b کاسته شد اما محلول‌پاشی با اسید اسکوربیک باعث افزایش میزان کلروفیل گردید، این نتایج با مشاهدات حاصل از آزمایش‌های Gheysari و همکاران (۲۰۱۶) روی گیاه ریحان مشابه است. در این آزمایش استفاده از اسید آسکوربیک باعث افزایش میزان کلروفیل گردید. تنش خشکی موجب از هم گسیختگی ساختار سلولی و اخلال در آنزیم‌های سلول می‌شود. کاهش کلروفیل که از عوامل اصلی فتوسنتز می‌باشد و نیز کاهش میزان آسیمیلات‌سازی، در نهایت موجب کاهش عملکرد می‌شود (Ahmadi & Sio-Se Mardeh, 2004). براساس گزارش‌های Moradi و همکاران (۲۰۰۸) اعمال تنش خشکی در مرحله رویشی موجب کاهش هدایت روزنه‌ای شد و عمده‌ترین اثر تنش خشکی روی آسیمیلاسیون co_2 ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد. Anjum و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که گیاه برای کاهش تعرق اقدام به بسته نمودن روزنه‌ها می‌کند که نتیجه آن ممانعت از ورود co_2 و کاهش فتوسنتز است و همین عامل سبب کاهش رشد و گسترش اندام هوایی می‌شود. طبق گزارش Dolatabadian و همکاران (۲۰۰۹) مشخص شد که محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کند و به‌طور غیرمستقیم سبب افزایش کلروفیل می‌گردد. براساس نتایج بدست آمده مشخص شد که با افزایش شدت تنش خشکی بر میزان پرولین برگ افزوده شد، به‌طوری که بیشترین میزان پرولین در شرایط تنش تا ۵۰٪ مرحله گلدهی بدست آمد. براساس نتایج بدست آمده از اعمال تنش خشکی بر روی گیاه فلفل، مشخص شد که در شرایط تنش خشکی میزان پرولین افزایش یافت (Koc *et al.*, 2010). Wang و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که تجمع پرولین هنگام تنش خشکی یکی از عوامل حفظ ساختار و جلوگیری از آسیب‌های سلولی می‌باشد. Babaee و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که با افزایش تنش به میزان پرولین نیز افزوده می‌شود. نقش آنتی‌اکسیدانی پرولین در توانایی آن برای غیرفعال کردن رادیکال‌های هیدروکسیل و سایر ترکیبات دارای فعالیت بالا که تحت شرایط تنش تولید شده و در انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها اختلال ایجاد می‌کنند، تظاهر می‌یابد و از این طریق پروتئین‌ها و غشاءها را در برابر آسیب محافظت می‌نماید (Bohnert & Jensen 1996). Pourghasemian و Moradi (۲۰۱۸) با بررسی اثر اسید آسکوربیک بر روی گیاه همیشه‌بهار نیز دریافتند که با افزایش تنش خشکی و اثر اسید آسکوربیک میزان پرولین افزایش می‌یابد. طی این آزمایش ابتدا میزان اسانس زیاد و با افزایش شدت تنش از میزان اسانس کاسته شد. این نتیجه با مشاهدات Munne و Alegre (۲۰۰۰) بر روی بادرنجبویه مطابقت دارد. براساس یافته‌های Kindscher و همکاران (۲۰۱۶) تنش خشکی

موجب افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاه سرخارگل شد. نتایج نشان داده است که گیاهان هنگام مواجه با شرایط خشکی و تنش میزان بیشتری از مواد پرورده را برای سنتز متابولیت‌های ثانویه اختصاص می‌دهند (Rebey *et al*., 2012).

براساس مطالعات، تنش آبی سبب افزایش اسانس آویشن دنایی (Bahreininejad *et al*., 2013)، آویشن باغی (Eman *et al*., 2008) و مریم‌گلی (Bettaieb *et al*., 2009) شده است. Izadi و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که با افزایش میزان تنش خشکی بر درصد اسانس گیاه نعنا فلفلی افزوده شد. MohammadPour Voshvaie و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه بر روی آویشن نشان دادند که با افزایش میزان تنش، گیاه میزان زیادی از مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی مانند پرولین، گلیسین بتائین و ترکیبات قندی می‌کند و به همین دلیل از درصد اسانس کاسته شد.

استفاده از محلول‌پاشی اسید آسکوربیک موجب افزایش تحمل در گیاه ریحان و حفظ گیاه در شرایط تنش شد. با استفاده از مقادیر پایین اسید آسکوربیک این تاب‌آوری بیشتر بود اما در مقادیر بالاتر مقاومت کمتر شد و از میزان صفاتی مانند سطح برگ، تعداد برگ و وزن خشک کاسته شد اما صفاتی مانند پرولین و طول ریشه افزایش یافتند. بنابراین در شرایط کنونی و با وجود کمبود منابع آبی و نیاز فراوان گیاهان به آب، می‌توان با استفاده از برخی عناصر غیرسمّی که وجود آنها برای گیاهان لازم و ضروری است، به‌صورت محلول‌پاشی، سبب شد تا گیاهان به شرایط تنش تاب‌آوری نشان دهند.

References

- Aghlmand, S., Esmaeilpur, B. and Heydari, H.B., 2016. The effect of salicylic acid and paclobutrazol on growth and physiological traits of basil under water stress. Journal of Plant Process and Function, 6(16): 35-46.
- Ahmad, P., Jaleel, C.A., Salem, M.A., Nabi, G. and Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. Critical Reviews in Biotechnology, 30(3): 161-175.
- Ahmadi, A. and Sio-Se Mardeh, A., 2004. The Effects of Water Stress on Soluble Carbohydrates, Chlorophyll and Proline Contents of four Iranian Wheat Cultivars under Different Moisture Regimes. Iranian Journal of Agriculture Science, 35(3): 753-763.
- Ali, Q., Ashraf, M. and Athar, H.R., 2007. Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. Pakistan journal of Botany, 39: 1133-1144.
- Anjum, S.A., Wang, L., Farooq, M., Khan, I. and Xue, L., 2011. Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defence system and yield in soybean under drought. Journal of Agronomy and Crop Science, 197(4): 296-301.
- Arabi, z., Kaboosi, K., Rezvantalab, N. and Torke Lalebagh, J., 2015. Effects of irrigation and super-absorbent hydrogels on morphological characteristics, yield and essential oil of Anise (*Pimpinella anisum* L.). Electronic Journal of Crop Production, 8(4): 51-66.
- Ardakani, M.R., Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M.H. and Packnejad, F., 2007. The effect of water deficit on quantitative and qualitative characters of balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(2): 251-261.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.
- Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advance, 27: 84-93.
- Ashraf, M., 2010. Inducing drught tolerance in plants: Recent advances. Biotechnology Advance 28: 169183.
- Aroca, R., 2012. Plant responses to drought stress from morphological to molecular features. Springer Heidelberg, New York Dordrecht, London, 466p.
- Babaee, K., Amini Dehghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbar, R., 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251.
- Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M., 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7(1): 155-166.

- 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.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M.E. and Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Scientia Horticulture, 120(2): 271-275.
- Bohnert, H.J. and Jensen, R.G., 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends Biotechnol, 14: 89-97.
- Dolatabadian, A., Sanavy, S. and Chashmi, N., 2008. The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science, 194: 206-213.
- Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S.A.M. and Sharifi, M., 2009. Effect of water deficit stress and foliar application of ascorbic acid on antioxidants enzymes activity and some biochemical changes in leaves of grain corn (*Zea mayz* L.). Iranian Journal of Biology, 22(3): 407-422.
- Ebrahimi, M., Zamani, Gh.R. and Alizadeh, Z., 2017. A study on the effects of water deficit on physiological and yield-related traits of pot Marigold (*Calendula officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(3): 492-508.
- Eman, E., Aziz, S.T., Hendawi, E., Din, A. and Omer, E.A., 2008. Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 4(4): 443-450.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechnisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29: 185-212.
- Fathi, A. and Tari, D.B., 2016. Effect of drought stress and its mechanism in plants. International Journal of Life Sciences, 10(1): 1-6.
- Farhoudi, R., 2017. Effect of drought stress on photosynthesis, percentage and yield of essential oil of german chamomile (*Matricaria recutita* L.) and chicory (*Cichorium intybus* L.) Khuzestan local mass in northern Khuzestan climatic conditions. Journal of Horticultural Science, 31(1): 122-130.
- Farahvash, F., Mirshekari, B. and Abbasi-Seyahjani, E., 2011. Effects of water deficit on some traits of three sunflower cultivars. Middle-East Journal of Scientific Research, 9(5): 584-587.
- Gheysari, S., Nematpour, F.S. and Safipour Afshar, A., 2016. The Effects of Salicylic Acid and Ascorbic Acid on Photosynthetic Pigments and some Antioxidant Enzyme Activities in Basil (Ocimum basilicum L.) under Lead Stress. Journal of Plant Research, 28(4): 814-825.
- Ghorbanali, M., Adib hashemi, N. and Peyvandi, M., 2010. Study of salinity and ascorbic acid on some physiological responses of *Nigella sativa* L. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 26(3): 370-388.
- Hartung, W., Peuke, A.D. and Davies, W.J., 1999. Abscisic acid-A hormonal. long-distance stress signal in plarts under drought and salt stress. Ins, New York, 731-743.
- Hassani, A. and Omidbaigi, R., 2002. Effect of water stress on some morphological, physiological and metabolic characteristics of basil. Agricultural Sciences, 12(3): 47-99.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A., da Silva, J.A.T. and Fujita, M., 2012. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. 261-300. In: B. Venkateswarlu, B., Shanker, A.K., Shanker, C. and Maheswari, M. (Eds.), Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies (eds. Bandi, V., Shanker, A.K., Shanker, C. and Mandapaka, M.,) Springer, Berlin, 612p.
- Hong-Bo Shao, L., Ye Chu, C., Abdul Jaleel, P., Manivannan, R., Panneer selvam, M. and Shao A., 2009. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants-biotechnologically and sustainably improving agriculture and the eco-environment in arid regions of the globe. Critical Reviews in Biotechnology, 29: 131-151.
- Hsiao, T.C. and Liu-Kang, X., 2000. Sensitivity of growth of roots leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. Experimental Botany, 51(350): 1595-1616.
- Izadi, Z., Asnaashari, M. and Ahmadvand, G., 2009. Influence of drought tension on yield, proline contents, soluble sugars, chlorophyll, relative water contents and essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Horticultural Science, 10(3): 223-234.
- Jubany-Marí, T., Munné-Bosch, S. and Alegre, L., 2010. Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 351-358.
- Juliani, H.R., Simon, J.E., Ramboatiana, M.M.R., Behra O., Garvey A. and Raskin I., 2002. Malagasy aromatic plants: essential oils, antioxidant and antimicrobial activities. XXVI International

in Vitro Condition. Journal of Plant Productions, 4(3): 77-89.
- Omidbegi, R., 2000. Production and processing of medicinal plants. Vol. 3, Astan Quds Razavi Publications, Mashhad, 379p.
- Payero, J.O., Tarkalson, D.P., Lrmak, S., Davison, D. and Peterson, J.L., 2009. Effect of timing of deficit irrigation allocation on corn-enapotranspivation Yield, Water useefficiency and dry mass. Agricultural of water Management, 96: 1387-397.
- Pourghasemian, N. and Moradi, R., 2018. Assessing effect of drought stress and ascorbic acid application on some growth and bio-chemical parameters of marigold (*Calendula officinalis L.*). Journal of Plant Process and Function, 6(19) :77-88.
- Pradhan, G.P., Prasad, P.V.V., Fritz, A.K., Kirkham, M.B. and Gill, B.S., 2011. Response of Aegilops species to drought stress during reproductive stages of development. Functional Plant Biology, 39: 51-59.
- Rampino, P., Spano, G., Pataleo, S., Mita, G., Napier, J.A., Di Fonzo, N., Shewry, P.R. and Perrotta, C., 2006. Molecular analysis of a durum wheat stay green mutant: Expression pattern of photosynthesisrelated genes. Journal of Cereal Science, 43: 160-168.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S. and Dhama, K., 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. BioMed Research International, 761264.
- Rebey, B.I., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B., 2012. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Industrial Crops and Products, 36: 238-245.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekananda, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161: 1189-1202.
- Saffaryazdi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A. and Bayat, H., 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleraceae* L.) plants. Notulae Scientia Biologicae, 4(4): 95-100.
- Selahvarzi, Y., Goldani, M., Nabati, J. and Alirezaei, M., 2011. Effects of exogenous application of ascorbic acid on some physic-chemistry response of marjoram under salt stress. Iranian Journal of Horticultural Science, 42: 159-167.
- Shalata, A. and Neumann, P.M., 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. Journal of Horticultural Congress. The Future for Medicinal and Aromatic Plants, 24: 641 - 50
- Khalid Hussein, Z. and Qader Khursheed, M., 2014. Effect of foliar application of ascorbic acid on growth, yield components and some chemical constituents of wheat under water stress conditions. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 10: 1-15
- Khan, M.I.R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N.A., 2012. Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycine betaine and ethylene. Pedosphere, 22: 746-754.
- Kindscher, K., 2016. Echinacea Herbal Medicine with a Wild History. Springer International Publishing, Switzerland, 238p.
- Koc, E., İslek, C. and Üstun, A.S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University Journal of Science, 23: 1-6.
- Mazinani, M.A., Moghaddam, M., Alavikia, S., shakiba, M.R., Mehrabi, A. and Pouraboughaddare, A.R., 2013. Study of genetic diversity in *T. boeoticum* populations under normal and water deficit stress conditions. Cereal Research, 2(1): 17-30.
- Mishra, A.K. and Singh, V.P., 2010. A review of drought concepts. Journal of Hydrology, 391(1): 202-216.
- MohammadPour Voshvaie, R., Ghloy, M., Ramroodi, M. and Fakheri, B.A., 2015. Effect of drought stress and biological fertilizers on the growth, yield and essence component of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Agroecology, 7(2): 237-253.
- Moradi, A., Ahmadi, A. and Hossein Zadeh, A., 2008. Agro-Physiological Responses of Mung Bean (cv. Partov) to Severe and Moderate Drought Stress Applied at Vegetative and Reproductive Growth Stages. Journal of Hydrology and Soil Science, 12(45) :659-671.
- Munn, S. and Alegre, L., 2000. The significance of beta carotene, alpha, tocopherol and the xanthophyll cycle in droughted Melissa officinalis plant. Journal of plant physiology, 27(2): 139-146.
- Mukhtar, A., Akram, N.A., Aisha, R., Shafiq, S. and Ashraf, M., 2016. foliar applied ascorbic acid enhances antioxidative potential and drought tolerance in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*). Agrochimical, 60: 100-113.
- Narimani, R., Moghaddam, M. and Shokouhi, D., 2017. The Effect of Different Concentrations of Sodium Nitroprusside in Alleviating Oxidative Damages Caused by Water Stress of Polyethylene Glycol in Medicinal Plant of Catmint Hairless under

5: 426-431.
- Wahid, A. and Rasul, E., 2005. Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit, in: Pessarakli M., Ed., Handbook of Photosynthesis, 2nd ed., CRC Press, Florida, 479-497.
- Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S. and Du, R., 2014. Effect of exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. Scientia Horticulturae, 168: 132-137.
- Zabalza, A., Galvez, L., Marino, D., Royuela, M., Arrese-Igor, C. and Gonzalez, E.M., 2008. The application of ascorbate or its immediate precursor, galactono-1,4-lactone, does not affect the response of nitrogen-fixing pea nodules to water stress. Journal of Plant Physiology, 165: 805-812.
- Zhang, J., Nguyen, H.T. and Blum, A., 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. Journal of Experimental Botany, 50: 291-302.

Experimental Botany, 52: 2207-2211.
- Smirnoff, N., 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. In: Smirnoff, N. (Ed.), Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 53-86.
- Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R., Kuikkarni, R., Sushil, H., Samresh, D., Kukre, J., Ashok, A., Sharmr Singh, K., Srikant, S. and Rakesh, T., 2001. Preliminary obserration on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science, 22: 356-358.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2006. Plant Physiology. 4th Ed., Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts, 782p.
- Takamiya, K.I., Tsuchiya, T. and Ohta, H., 2000. Degradation pathway(s) of chlorophyll: What has gene cloning revealed? Trends in Plant Science,