

تأثیر بیوجار و اسید هیومیک بر کاهش تنش قلیائیت در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

چکیده

برای کاهش اثرات قلیائیت بر گیاهان می‌توان از بعضی از مواد اصلاح‌کننده آلی استفاده کرد. در این پژوهش، تأثیر کاربرد بیوجار در خاک و هم‌زمان محلول‌پاشی برگ‌ها با اسید هیومیک بر کاهش تنش قلیائیت در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) بررسی گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۱ در گلخانه دانشگاه رازی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل قلیائیت در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار از نمک بی‌کربنات سدیم با آب آبیاری)، بیوجار در سه سطح (۰، ۱/۵ و ۳ درصد وزنی به صورت مخلوط با خاک) و اسید هیومیک در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی برگ‌ها) بودند. نتایج نشان داد که اثرات متقابل قلیائیت، بیوجار و اسید هیومیک بر بیشتر ویژگی‌های رشدی و نیز مقادیر پرولین، قندهای محلول و رنگیزه‌های گیاهی معنی‌دار شد ($P \leq 0.01$). حداکثر جرم خشک شاخساره و ریشه (به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۳۹ گرم بر گلدان)، ارتفاع گیاه (۲۳/۵ سانتی‌متر)، طول ریشه (۱۹/۵ سانتی‌متر) و محتوای نسبی آب برگ (۸۶/۴ درصد) به ترتیب در تیمار حاوی ۳ درصد بیوجار، ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و بدون قلیائیت به دست آمد. همچنین، بیشترین مقدار پرولین (۳/۱۳ میکرومول بر گرم) و قندهای محلول (۶/۰۸ میلی‌گرم بر گرم) در شرایط تنش شدید قلیائیت و بدون کاربرد بیوجار و اسید هیومیک حاصل شد. به‌طور کلی، کاربرد هم‌زمان بیوجار یک روش ساده، مناسب و ارزان در راستای کاهش اثر تنش قلیائیت در گیاه دارویی ریحان است.

کلیدواژه‌ها: اصلاح‌کننده آلی، پرولین، تنش غیرزیستی، گیاهان دارویی

Effect of biochar and humic acid on reducing alkalinity stress in basil (*Ocimum basilicum* L.)

ABSTRACT

Some organic modifiers can be used to reduce the effects of alkalinity on plants. In this research, the effects of simultaneous application of biochar in the soil and foliar spraying with humic acid on the reduction of alkalinity stress in basil (*Ocimum basilicum* L.) were investigated. A factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications. The factors included alkalinity stress at three levels (0, 50, and 100 mM as NaHCO_3 with irrigation water), biochar (at three levels of 0, 1.5, and 3% by weight mixed with soil) and humic acid at three levels (0, 150, and 300 mg/L as foliar spray). The results showed that the interaction effect of alkalinity, biochar and humic acid on most of the growth characteristics as well as the amounts of proline, soluble sugars and plant pigments were significant ($P \leq 0.01$). The highest shoot and root dry weight (0.88 and 0.39 g, respectively), shoot height (23.5 cm), root length (19.5 cm) and relative water content (86.4 %) were obtained with application of 3% of biochar and 300 mg/L of humic acid, without alkalinity. Also, the highest amount of proline (3.13 $\mu\text{mol/g}$) and soluble sugars (6.08 mg/g) were found under severe alkalinity stress (100 mM of NaHCO_3), without the use of biochar and humic acid. In general, the simultaneous use of biochar and humic acid is a simple, suitable and cheap method to reduce the adverse effects of alkaline stress in basil.

Keywords: Abiotic stress, medicinal plants, organic amendments, proline

مقدمه

قلیائیت خاک که با اندازه‌گیری pH مشخص می‌شود، یک ویژگی شیمیایی مهم ناشی از مقدار بیش از حد یون‌های سدیم تبادلی (معمولاً بیش از ۱۵ درصد محل‌های تبادل) و یا نمک‌های محلول با قابلیت هیدرولیز قلیایی است (Zewd and Sibani, 2021). این عامل به‌عنوان یک تنش محیطی مهم، محدودکننده تولید در بخش کشاورزی مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا و از جمله ایران است. این تنش عمدتاً توسط یون‌های کربنات (CO_3^{2-}) و بی‌کربنات (HCO_3^-) ایجاد می‌شود. در این شرایط، علاوه بر اثرات اسمزی، آسیب‌های یونی بر رشد گیاهان نیز وجود دارد. بنابراین، گیاهان باید بتوانند علاوه بر خشکی فیزیولوژیکی، بر سمیت یونی نیز غلبه کنند تا توازن یونی درون و بیرون ریشه‌ها را تنظیم نمایند (Machado and Serralheiro, 2017).

علاوه بر آن، با افزایش pH محیط ریشه، قابلیت جذب بعضی از عناصر غذایی مانند فسفر، آهن و روی کاهش می‌یابد و با توجه به نقش برخی از این عناصر در سنتز کلروفیل، پارامترهای فتوسنتزی و رشدی گیاهان نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Ma *et al.*, 2022). از جمله اثرات تنش قلیائیت بر پارامترهای رشدی، کاهش جرم خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان است. به عنوان مثال، بررسی تنش قلیائیت ناشی از نمک NaHCO_3 بر ویژگی‌های گردو نشان می‌دهد که علاوه بر فتوسنتز و کلروفیل برگ، شاخص‌های رشدی بخش هوایی و ریشه با افزایش تنش قلیائیت به شدت کاهش یافت (Gong, *et al.*, 2013).

از جمله راهکارهای کاهش تنش قلیائیت در گیاهان، کاربرد مواد اصلاح‌کننده آلی مثل بیوپچار در خاک و یا محلول‌پاشی گیاهان با اسید هیومیک است. بیوپچار یا همان زغال زیستی، یک ترکیب آلی متخلخل و غنی از کربن است که طی فرآیند گرماکافت، در شرایط عدم حضور اکسیژن و یا با اکسیژن محدود، از ضایعات آلی تولید می‌شود. کاربرد این ماده آلی در خاک می‌تواند با بهبود کیفیت و سلامت فیزیکی خاک، موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش شود. به عنوان مثال، کاربرد بیوپچار می‌تواند ساختمان خاک، تخلخل و تهویه خاک منطقه ریشه گیاه را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار دهد (Premalatha *et al.*, 2023). همچنین، بیوپچار می‌تواند با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی خاک و نیز قابلیت دسترسی عناصر غذایی، موجب افزایش حاصلخیزی خاک و رشد بهتر گیاه شود (Rawat *et al.*, 2019). البته اثر بیوپچار بر بهبود ویژگی‌های خاک، فراهمی عناصر غذایی و رشد گیاه، به نوع خاک، نوع زیست توده اولیه و شرایط گرماکافت بستگی دارد (Khan *et al.*, 2022).

همچنین، امروزه با توجه به ملاحظات زیست‌محیطی، استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود خصوصیات کمی و کیفی محصولات زراعی و نیز افزایش تحمل آن‌ها در برابر تنش‌های محیطی رواج پیدا کرده است. اسید هیومیک یک ترکیب پلیمری طبیعی آلی با وزن مولکولی بالا است که تحت تأثیر کاتالیزورهای غیرزیستی بر ترکیبات آلی مانند لیگنین‌ها به وجود می‌آید. در ساختار مولکولی این ترکیب آروماتیک، چند زنجیره اسید کربوکسیلیک و حلقه فنلی دارای گروه هیدروکسیل وجود دارد (Vikram *et al.*, 2022). این ترکیب آلی دارای اثرات شبه‌هورمونی بر رشد و متابولیسم گیاهان است و استفاده از آن می‌تواند با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و نیز افزایش فتوسنتز و تنفس، موجب افزایش رشد عمومی و همچنین، مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی گردد (Chen *et al.*, 2022).

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی به لحاظ درمان، تأمین بهداشت و سلامتی جامعه برخوردار هستند. یکی از مهمترین گونه‌های اقتصادی ریحان است. ریحان معمولی با نام علمی *Ocimum basilicum* L. گیاهی یک ساله و متعلق به خانواده نعناعیان است که به صورت دارویی، ادویه‌ای و سبزی تازه استفاده می‌شود. این گیاه بیشتر برای درمان تب، گرفتگی گلو و دل درد مصرف می‌شود، اما خاصیت ضد انگلی، ضد باکتریایی، ضد قارچ و ضد ویروسی نیز دارد همچنین، در صنایع غذایی، داروسازی، عطرسازی و دندانپزشکی کاربرد دارد (Chiang *et al.*, 2005).

با توجه به اهمیت توسعه اقتصادی کشت گیاه دارویی ریحان، بررسی اثرات منفی تنش قلیائیت بر ویژگی‌های رشدی آن و نیز نقش بیوپچار و اسید هیومیک، به عنوان اصلاح‌کننده‌های آلی، در کاهش اثرات قلیائیت در این گیاه دارای اهمیت ویژه‌ای است. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر کاربرد خاکی بیوپچار کلزا و محلول‌پاشی گیاه با اسید هیومیک بر صفات رشدی و فیزیولوژیک ریحان تحت تنش قلیائیت، به منظور کاهش اثرات تنش و بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی این گیاه بود.

پیشینه پژوهش

در بررسی اثرات بیوپچار بر جذب عناصر غذایی و ویژگی‌های رشدی چغندر قند تحت تنش شوری و قلیائیت گزارش شده است که اگرچه قلیائیت به طور قابل توجهی جذب نیتروژن، میزان قند، فتوسنتز و رشد ریشه را کاهش داد، اما کاربرد بیوپچار در خاک، جذب عناصر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی چغندر قند را بهبود بخشید (Zhang *et al.*, 2020).

نتایج بررسی اثرات کاربرد بیوچار بر خصوصیات بیوشیمیایی و غلظت برخی از عناصر غذایی گل رز در شرایط تنش شوری ناشی از آب حاوی نمک کلرید سدیم نیز نشان داده است که بیوچار تأثیر قابل توجهی در کاهش اثرات منفی تنش در گیاه داشته است. به عبارتی، با توجه به نقش بیوچار در افزایش غلظت آهن، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم و نیز کاهش پرولین و سدیم بخش هوایی، لذا کاربرد بیوچار می تواند سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری و قلیائیت در گیاهان شود (انصاری و همکاران، ۱۴۰۲).

همچنین، محلول پاشی گیاهان با اسید هیومیک می تواند با افزایش ترشح هورمون های اکسین، سیتوکینین و جیبرلین، موجب افزایش رشد عمومی گیاه شده و با تعدیل اثرات منفی تنش محیطی، موجب افزایش بیشتر شاخص های رویشی گردد (Jindo et al., 2020). گزارش شده است که محلول پاشی گیاهان با اسید هیومیک، از طریق سنتز پروتئین و افزایش فتوسنتز، موجب افزایش جرم خشک شاخساره و ریشه تحت تنش قلیائیت گردیده است (Vikram et al., 2022).

همین طور، در آزمایش بررسی اثر اسید هیومیک بر رشد و برخی پاسخ های فیزیولوژیکی گیاه گندم تحت تنش شوری نمک NaCl گزارش شده است که کاربرد اسید هیومیک تأثیر معنی داری بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گندم تحت تنش شوری داشت. در این شرایط، اسید هیومیک موجب افزایش پارامترهای رشد و اجزای عملکرد، محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و همچنین نشت یونی گردید. به طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد اسید هیومیک با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه می تواند آثار منفی شوری بر گیاه را کاهش دهد (شریفی اصل و همکاران، ۱۳۹۹).

مواد و روش ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه رازی اجرا شد. نمونه برداری خاک از لایه سطحی (۰-۲۰ سانتی متری) زمین های زراعی دانشکده کشاورزی با مختصات جغرافیایی ۳۴ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی و ۴۷ درجه و ۵ دقیقه شرقی تهیه شد. بعد از هواخشک کردن و عبور دادن از الک ۲ میلی متری، ویژگی های فیزیکی و شیمیایی مهم نمونه خاک شامل بافت خاک به روش هیدرومتر، واکنش (pH) خاک در نسبت ۱:۱ آب به خاک به وسیله pH سنج، قابلیت هدایت الکتریکی (EC) در عصاره ۱:۱ آب به خاک به وسیله هدایت سنج، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی سازی با اسید کلریدریک و کربن آلی به روش اصلاح شده والکلی و بلک تعیین شدند (Klute, 1986). همچنین، pH، نسبت جذب سدیم (SAR)، قابلیت هدایت الکتریکی (EC) و غلظت بی کربنات نمونه آب آبیاری مورد استفاده به ترتیب ۷/۸، ۰/۱۸، ۶۸۶ میکروزیمنس بر متر و ۳/۸ میلی اکی والان در لیتر بوده است. ویژگی های نمونه خاک مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

| بافت خاک | رس % | سیلت % | شن % | EC (dSm ⁻¹) | pH | SAR | CaCO ₃ (%) | ازت کل (%) | پتاسیم قابل جذب (mg kg ⁻¹) | فسفر قابل جذب (mg kg ⁻¹) | کربن آلی (%) |
|----------|------|--------|------|-------------------------|------|-----|-----------------------|------------|--|--------------------------------------|--------------|
| SiC | ۴۴ | ۴۱/۹ | ۱۴/۴ | ۰/۳۲ | ۷/۵۲ | ۱/۲ | ۱۵/۵ | ۰/۰۸ | ۱۸۲ | ۸/۳ | ۰/۸۲ |

فاکتورهای آزمایشی شامل بیوچار کلزا در سه سطح (۰، ۱/۵ و ۳ درصد جرمی به صورت مخلوط با خاک)، قلیائیت در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار از نمک NaHCO₃ همراه با آب آبیاری)، و اسید هیومیک در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر به صورت محلول پاشی برگی) بودند. انتخاب سطوح تیمارها بر اساس نتایج تحقیقات قبلی در خصوص گیاه ریحان و سایر گیاهان مشابه صورت گرفت (Ji et al., 2022; Sayarer et al., 2023; Silva et al., 2023; Zhang et al., 2020).

اسید هیومیک از نماینده فروش محصولات سیگما آلدریج در ایران تهیه شد. بیوچار مورد استفاده نیز با انجام فرآیند پیرولیز بقایای کلزا در شرایط اکسیژن محدود به مدت ۴ ساعت (کل زمان حرارت دهی) در یک کوره با دمای نهایی ۳۵۰ درجه سانتی گراد تولید

شد (Wang *et al.*, 2018). پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری، بعضی از ویژگی‌های مهم آن تعیین شد. pH و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) بیوپچار در نسبت ۱:۵ آب-بیوپچار توسط دستگاه pH متر و EC متر اندازه‌گیری گردید. سطح ویژه بیوپچار نیز بر اساس میزان جذب گاز نیتروژن در سطح جاذب تعیین شد (Leng *et al.*, 2021). همچنین، میزان سدیم و پتاسیم تبادل با روش فلیم فتومتر، کلسیم و منیزیم تبادل با روش تیتراسیون، فسفر قابل جذب با روش اسید آسکوربیک، کربن آلی (OC) با روش والکی بلک و ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش دو مرحله‌ای (روش جمعی و روش جابجایی بعد از شستشو) تعیین شدند. ازت کل بیوپچار هم پس از هضم توسط اسید سولفوریک غلیظ و قرص کاتالیزور با دستگاه کج‌دال اندازه‌گیری شد (Singh *et al.*, 2017). جدول ۲ ویژگی‌های بیوپچار مورد استفاده را نشان می‌دهد.

جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بیوپچار مورد استفاده

| سطح ویژه (m ² /g) | pH | EC (dS/m) | سدیم تبادل (meq/100g) | پتاسیم تبادل (meq/100g) | کلسیم تبادل (meq/100g) | منیزیم تبادل (meq/100g) | فسفر قابل جذب (mg/kg) | OC (%) | نیتروژن کل (%) | CEC (cmol/kg) |
|------------------------------|-----|-----------|-----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|--------|----------------|---------------|
| ۲۶/۴ | ۸/۹ | ۴/۳ | ۱/۷ | ۲/۲ | ۴۸/۵ | ۶/۳ | ۰/۲۶ | ۳۹/۱ | ۰/۴۳ | ۴۱/۸ |

قابلیت هدایت الکتریکی (EC) و pH بیوپچار به ترتیب ۴/۳ دسی‌زیمنس بر متر و ۸/۹ بود. ماهیت قلیایی بیوپچار به دلیل آزاد شدن یون‌های معدنی (حاصل تجزیه نمک‌های قلیایی) در طی فرآیند گرماکافت است. همچنین، دمای بالای فرآیند، با خروج مقادیر قابل توجهی از هیدروژن و اکسیژن و بخشی از کربن به صورت گازهای مختلف از ساختار زیست‌توده، سبب افزایش تخلخل، سطح ویژه (۲۶/۴ m²/g) و ظرفیت تبادل کاتیونی (۶۲/۸ cmol/kg) بیوپچار شد (Ain *et al.*, 2021).

در انجام این تحقیق، از گلدان‌های ۵ کیلوگرمی با ارتفاع ۲۰ و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر استفاده شد. بیوپچار کلزا بر اساس سطوح مورد نظر به طور کامل با خاک هر گلدان (به میزان ۴/۵ کیلوگرم) مخلوط شد. سپس، ۲۵ عدد بذر ریحان به صورت دایره‌ای در عمق ۳ سانتی‌متری خاک کشت شدند. با توجه به نتایج آزمون خاک، کمبودی از نظر عناصر غذایی کم‌مصرف و نیز پتاسیم برای گیاهان مشاهده نشد اما در خصوص فسفر، قبل از کاشت بذور ۰/۵ گرم کود سوپرفسفات تریپل به خاک هر گلدان اضافه و با آن مخلوط شد.

در طول آزمایش، عملیات آبیاری بر اساس میزان کاهش رطوبت خاک از ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC) صورت گرفت. میزان رطوبت معادل ظرفیت مزرعه بر اساس منحنی مشخصه رطوبتی خاک تعیین شد. پس از جوانه‌زنی بذرها، در هر گلدان ۴ بوته باقی و بقیه تنک شدند. سپس، کود اوره به صورت محلول (۵/۵ گرم در لیتر) همراه با آب آبیاری به خاک هر گلدان اضافه شد. مرحله دوم اضافه کردن اوره پس از شروع رشد طولی ساقه (۱۰ روز بعد) انجام گردید.

پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها و در مرحله ۸ برگی، تیمار قلیائیت در سه سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار با استفاده از نمک بی‌کربنات سدیم (به ترتیب با pH برابر ۷/۲۸، ۸/۳۵ و ۸/۸۱) اعمال شد. بر اساس سطوح آزمایشی، مقادیر لازم از این نمک در آب مقطر حل و همراه با آب آبیاری با فاصله هر پنج روز یک‌بار استفاده شد. پس از هر سه مرحله اعمال تیمار قلیائیت، یک مرحله آبیاری گلدان‌ها با آب معمولی صورت گرفت تا از تجمع نمک جلوگیری شود.

تیمار اسید هیومیک به صورت محلول پاشی برگی تا خیس شدن کامل سطح برگ‌ها در ساعات غروب آفتاب (جهت جلوگیری از تبخیر محلول) صورت گرفت. اعمال این تیمار در ۳ نوبت و به فاصله ۱۰ روز یک‌بار انجام شد. تیمار شاهد نیز با آب مقطر اسپری برگی شد. میانگین تغییرات دمای روزانه و شبانه گلخانه در طول دوره آزمایش به ترتیب ۲۵-۲۰ و ۱۵-۱۱ درجه سانتی‌گراد بود.

در پایان دوره رویشی، بعضی از پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری و به صورت میانگین بر گلدان محاسبه شدند. ارتفاع بوته‌ها از سطح خاک تا انتهای ساقه و نیز طول ریشه‌های هر بوته بعد از خارج کردن از خاک و شستشوی کامل با آب مقطر بوسیله خط‌کش اندازه‌گیری شدند. تعداد برگ (بوته در گلدان) در زمان برداشت شمارش شد. برای تعیین جرم خشک شاخساره و ریشه، نمونه‌های گیاهی داخل آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده و سپس توزین شدند.

محتوی نسبی آب برگ به روش ریچی و همکاران (Ritchie et al., 1990)، پرولین با روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)، میزان قندهای محلول با روش فنل - اسید سولفوریک (Kochert, 1978) و برای اندازه‌گیری رنگی‌های گیاهی از روش استاندارد مربوطه (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) استفاده شد.

مقادیر فسفر، سدیم و پتاسیم نمونه‌های گیاهی در عصاره هضم خشک تعیین شد. فسفر به روش نیترو وانادو مولیدات و استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، سدیم و پتاسیم به روش فلیم‌فتومتری و نیتروژن کل به روش کجلدال اندازه‌گیری شدند (Klute, 1986). همچنین، پس از برداشت گیاه، بعضی از ویژگی‌های خاک شامل واکنش (pH) خاک، قابلیت هدایت الکتریکی (EC)، کربن آلی خاک و نسبت جذب سدیم (SAR) با روش‌های متداول تعیین شدند (Sparks, 1996). تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت.

نتایج و بحث

غلظت عناصر غذایی در ریحان

بر طبق نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات)، اثرات متقابل تنش قلیائیت، بیوجار و اسید هیومیک بر میزان عناصر فسفر، پتاسیم و نیتروژن ریحان در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات بیوجار و اسید هیومیک بر غلظت عناصر غذایی ریحان تحت تنش قلیائیت

| منابع تغییرات | درجه آزادی | فسفر | پتاسیم | نیتروژن |
|--------------------------------|------------|----------------------|---------|--------------------|
| قلیائیت | ۲ | ۰/۰۴** | ۰/۳۴۵** | ۴/۲۶** |
| بیوجار | ۲ | ۰/۰۳۱** | ۰/۶۶۵** | ۱/۶۴** |
| اسید هیومیک | ۲ | ۰/۰۳۹** | ۰/۳۶۳** | ۱/۵۱** |
| بیوجار × قلیائیت | ۴ | ۰/۰۰۰۲** | ۰/۰۳۵** | ۰/۰۶۴** |
| اسید هیومیک × قلیائیت | ۴ | ۰/۰۰۰۳ ^{NS} | ۰/۰۰۵** | ۰/۰۳** |
| اسید هیومیک × بیوجار | ۴ | ۰/۰۰۱** | ۰/۰۲** | ۰/۰۱ ^{NS} |
| اسید هیومیک × قلیائیت × بیوجار | ۸ | ۰/۰۰۰۲** | ۰/۰۱** | ۰/۰۲** |
| خطا | ۵۴ | ۰/۰۰۰۰۴ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۱ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۲/۷۹ | ۲/۱۶ | ۲/۸۱ |

NS، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد را نشان می‌دهد.

نیتروژن

بیشترین مقدار نیتروژن (۳/۵۳ درصد)، در تیمار ۳ درصد بیوجار، ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و بدون قلیائیت به دست آمد. به عبارتی، کاربرد هم‌زمان بیوجار و اسید هیومیک سبب افزایش مقدار نیتروژن در گیاه نسبت به تیمار شاهد گردید. بیوجار مورد استفاده منبع مهمی از نیتروژن بوده (۱/۴۳ درصد) (جدول ۲) و آزادسازی آن در محیط خاک، طبعاً زمینه جذب بوسیله ریشه گیاه را

فراهم می‌سازد. از طرف دیگر، ساختار متخلخل و غنی از کربن بیوچار تولیدی (دارای نزدیک به ۴۰ درصد کربن) موجب می‌شود که کاربرد این ماده آلی در خاک بتواند با افزایش کیفیت فیزیکی خاک، از جمله بهبود تخلخل، تهویه و یا ظرفیت نگهداری آب، باعث رشد و توسعه ریشه در خاک شود (Premalatha *et al.*, 2023). همچنین، ظرفیت تبادل کاتیونی زیاد بیوچار (۶۱/۸ Cmol/kg)، موجب افزایش حاصلخیزی خاک و قابلیت جذب و دسترسی عناصر غذایی و از جمله نیتروژن می‌شود (Rawat *et al.*, 2019). علت افزایش میزان نیتروژن در حضور اسید هیومیک نیز ممکن است به دلیل نقش آن در سنتز حامل‌های پروتئینی یونی و در نتیجه افزایش جذب یون‌ها باشد (Dell'Agnola *et al.*, 1981). همچنین، مواد هیومیکی از طریق تأثیر بر تحرک پذیری یون‌ها و یا فرایندهای فیزیولوژیکی، سبب بهبود جذب عناصر غذایی به‌وسیله گیاهان می‌شوند. کمترین مقدار نیتروژن (۱/۸۶ درصد) نیز در شرایط تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوچار و اسید هیومیک به‌دست آمد. یون سدیم ناشی از انحلال نمک بی‌کربنات سدیم می‌تواند سبب به هم خوردن تعادل یونی در محیط ریشه و کاهش جذب عناصر غذایی توسط گیاهان شود (Barrow and Shaw, 1976).

فسفر

بر طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین مقدار فسفر ریحان (۰/۳۷ درصد) گیاه در تیمار بدون قلیائیت با ۳ درصد بیوچار و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک به‌دست آمد. به عبارت دیگر، با افزایش سطوح کاربردی بیوچار و اسید هیومیک در خاک، مقدار فسفر گیاه بیشتر گردید. بیوچار مورد استفاده دارای ذخیره خوبی از عناصر غذایی و از جمله فسفر بوده است (جدول ۲). ضمن این‌که با توجه سطح زیاد کربن آلی آن، می‌تواند با افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک، موجب افزایش قابلیت دسترسی گیاهان به عناصر غذایی و بویژه فسفر شود (Rasouli-Sadaghiani *et al.*, 2018). به عبارت دیگر، با توجه به بالابودن نسبت جذبی سدیم (SAR) در خاک‌های قلیا، افزودن بیوچار به این خاک‌ها، ممکن است از طریق افزایش فراوانی کلسیم و منیزیم و به دنبال آن کاهش SAR، زیست‌فراهمی فسفر در خاک و میزان جذب آن توسط گیاهان را افزایش دهد (Chintala *et al.*, 2013). بر طبق نتایج، مقادیر کلسیم و منیزیم تبادلی بیوچار تولیدی به ترتیب ۴۸/۵ و ۶/۳ meq/100 g و سدیم تبادلی فقط ۱/۷ meq/100 g بوده است (جدول ۲). یعنی بنظر می‌رسد بیوچار مورد استفاده نقش قابل توجهی در کاهش SAR داشته است. همچنین، اسید هیومیک از طریق اثرات هورمونی و با تأثیر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و با قدرت کی‌لیت‌کنندگی، موجب افزایش جذب عناصر غذایی و رشد گیاه می‌شود. به عبارت دیگر، اسید هیومیک با تأثیر بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان و از جمله مکانیسم‌های دخیل در فتوسنتز، سبب بهبود جذب عناصر غذایی به‌وسیله گیاه می‌شود (Kamari Shahmaleki *et al.*, 2010). کمترین مقدار فسفر ریحان (۰/۱۲ درصد) نیز در شرایط تنش شدید قلیائیت (۱۰۰ میلی‌مولار بی‌کربنات سدیم) و عدم کاربرد بیوچار و اسید هیومیک به‌دست آمد. با توجه به اینکه بهترین محدوده pH خاک برای جذب فسفر بین ۵/۵ تا ۶/۵ است، لذا افزایش pH ناشی از تأثیر بی‌کربنات سدیم، می‌تواند قابلیت جذب فسفر را کاهش دهد (Gong, *et al.*, 2013). نتایج آنالیز خاک گلدان‌ها بعد از برداشت محصول نیز نشان داد که pH و نسبت جذبی سدیم (SAR) خاک با کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار از نمک بی‌کربنات سدیم در آب آبیاری از ۷/۵۲ و ۱/۲ در نمونه خاک اولیه به ۸/۲۱ و ۳/۵ افزایش یافت. فسفر به‌عنوان یک عنصر غذایی ضروری، در فرایندهای فتوسنتز، ذخیره و انتقال انرژی، فعالیت آنزیم‌ها و انتقال کربوهیدرات‌ها نقش دارد. بنابراین، کاهش جذب آن می‌تواند به طرق مختلف موجب کاهش رشد عمومی گیاه گردد.

پتاسیم

کمترین مقدار پتاسیم ریحان (۰/۹۷ درصد) در تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوجار و اسید هیومیک به دست آمد. کاهش مقدار این عنصر در شرایط تنش قلیائیت می‌تواند در ارتباط با افزایش جذب سدیم به وسیله ریشه، با حضور نمک بی‌کربنات سدیم در محیط ریزوسفر باشد. بر طبق نتایج آنالیز نمونه‌های گیاهی، غلظت سدیم گیاه از ۴/۲ میلی‌گرم در گرم در نمونه شاهد به ۱۲ میلی‌گرم در گرم در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار بی‌کربنات سدیم افزایش یافت. یعنی قلیائیت خاک ناشی از نمک بی‌کربنات سدیم، موجب کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه شد. به عبارت دیگر، افزایش غلظت زیاد سدیم در اندام هوایی و برگ‌های گیاه باعث اختلال در جذب پتاسیم می‌گردد (Gong, et al., 2013). افزایش قلیائیت خاک ناشی از مصرف ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بی‌کربنات سدیم در آب آبیاری موجب شد که SAR خاک به ترتیب حدود ۲ و ۳ برابر افزایش یابد.

بیشترین مقدار پتاسیم گیاه (۱/۹ درصد) نیز در شرایط بدون قلیائیت و کاربرد بیوجار به میزان ۳ درصد و اسید هیومیک در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. یعنی، افزودن بیوجار به خاک یا محلول‌پاشی گیاه با اسید هیومیک موجب افزایش جذب پتاسیم به وسیله گیاه شد. بر طبق نتایج آنالیز اولیه، بیوجار مورد استفاده دارای مقادیر قابل توجهی پتاسیم تبدالی (۲/۲ meq/100 g) و به میزان کمتری سدیم تبدالی (۱/۷ meq/100 g) بود (جدول ۲).

از طرف دیگر، ضمن اینکه اسید هیومیک تجاری دارای مقادیر قابل توجهی پتاسیم است، گزارش شده که فعالیت شبه هورمونی این اسید نیز می‌تواند زمینه‌ساز جذب بیشتر عناصر غذایی ضروری و از جمله پتاسیم به وسیله ریشه گیاهان شود (Kamari Shahmaleki et al., 2010). همچنین، اسید هیومیک به دلیل توانایی کلات‌کنندگی عناصر غذایی، قابلیت استفاده از این عناصر را برای گیاه افزایش می‌دهد (Vikram et al., 2022).

ویژگی‌های فیتوشیمیایی ریحان

نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات تنش قلیائیت، بیوجار و اسید هیومیک بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی ریحان نشان داد که اثرات متقابل تیمارها بر مقادیر پرولین، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل در سطح یک درصد و بر قندهای محلول در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

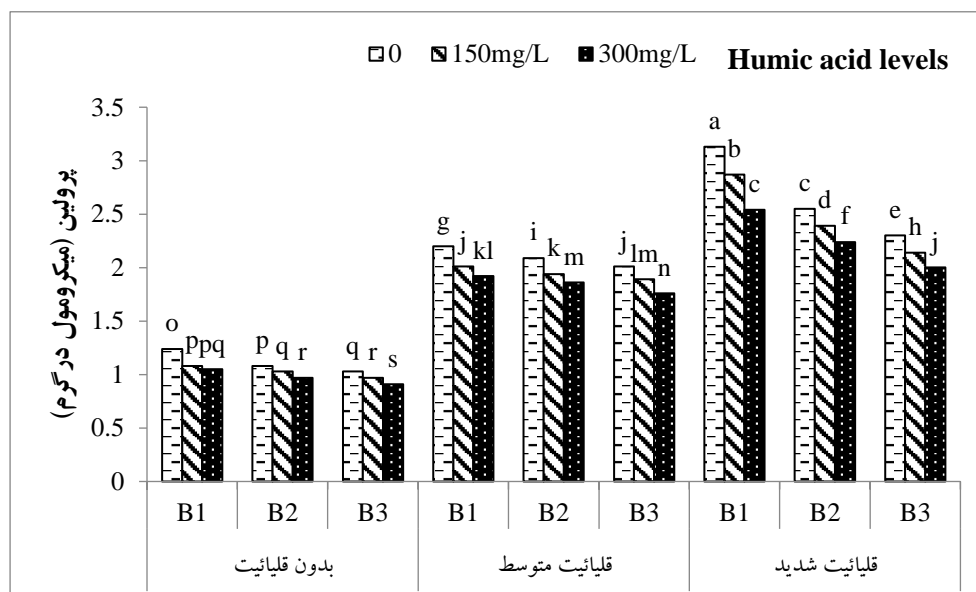
جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات قلیائیت، بیوجار و اسید هیومیک بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی ریحان

| منابع تغییرات | درجه آزادی | پرولین | قند محلول | کلروفیل a | کلروفیل B | کلروفیل کل | کاروتنوئید |
|--------------------------------|------------|---------|-----------|---------------------|-----------|------------|------------|
| قلیائیت | ۲ | ۱۴/۸** | ۲۱/۶۲** | ۰/۰۹۳** | ۰/۱۳۴** | ۰/۰۶۳** | ۰/۰۰۰۸** |
| بیوجار | ۲ | ۰/۷۶۸** | ۱۱/۹۶** | ۰/۳۰۳** | ۰/۰۴۴** | ۰/۷۱۳** | ۰/۰۴۵** |
| اسید هیومیک | ۲ | ۰/۴۶۵** | ۴/۲۱** | ۰/۲۳** | ۰/۰۹** | ۰/۴۹** | ۰/۲۴۸** |
| بیوجار × قلیائیت | ۴ | ۰/۲۳۱** | ۱/۰۴** | ۰/۰۰۳ ^{ns} | ۰/۰۰۴** | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۱۸** |
| اسید هیومیک × قلیائیت | ۴ | ۰/۰۳۹** | ۰/۲۳* | ۰/۰۰۲** | ۰/۰۰۳* | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۰۷** |
| اسید هیومیک × بیوجار | ۴ | ۰/۰۱۴** | ۰/۱۱* | ۰/۰۱۲** | ۰/۰۱** | ۰/۰۳** | ۰/۰۰۳۶** |
| اسید هیومیک × قلیائیت × بیوجار | ۸ | ۰/۰۰۶** | ۰/۰۹* | ۰/۰۰۴** | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۴** | ۰/۰۰۰۵** |
| خطا | ۵۴ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۴ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰۰۲ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۱/۱۲ | ۵/۸۰ | ۳/۷۵ | ۶/۰۲ | ۲/۶۲ | ۲/۱۸۶ |

ns, * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد را نشان می‌دهد.

پرولین

بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیشترین غلظت پرولین (۳/۱۳ میکرومول در گرم)، در شرایط تنش شدید قلیائیت (۱۰۰ میلی مولار بی کربنات سدیم) و بدون کاربرد اسید هیومیک و بیوجار به دست آمد (شکل ۱). تولید و تجمع تنظیم کننده‌های اسمزی مانند پرولین در گیاهان در شرایط بروز تنش‌های محیطی مانند شوری و قلیائیت، یک پاسخ فیزیولوژیک و نوعی سازوکار گیاه برای مقابله با تنش است. به عبارتی، تنش‌های اسمتیک در گیاهان باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود و گیاه برای پاک‌سازی این رادیکال‌های سمی، راهبردهای گوناگونی را به کار می‌گیرد که از مهم‌ترین آن‌ها، تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه مثل پرولین است (Hosseinifard et al., 2022).



B1, B2 و B3 به ترتیب بیانگر کاربرد بیوجار در سطوح ۰،۵/۱ و ۳ درصد جرمی.

بدون قلیائیت، قلیائیت متوسط و شدید به ترتیب کاربرد بی کربنات سدیم در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ میلی مولار را نشان می‌دهد. در هر ستون، میانگین‌های که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

شکل ۱. مقایسه میانگین اثرات بیوجار و اسید هیومیک بر میزان پرولین ریحان تحت تنش قلیائیت

در واقع، در شرایط تنش قلیائیت، مقدار یون سدیم در سیتوسول افزایش می‌یابد و در چنین شرایطی، برای حفظ تعادل پتانسیل آبی درون سیتوپلاسم، پرولین تجمع پیدا می‌کند. غلظت سدیم در نمونه‌های گیاهی از ۴/۲ در نمونه شاهد به ۱۲ میلی‌گرم در گرم در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار بی کربنات سدیم افزایش یافت. بنابراین، افزایش تجمع پرولین در سیتوپلاسم سلول گیاهی به عنوان اسموتیکوم در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌ها، حفظ تورم سلولی، جلوگیری از آسیب به غشای سلولی (پایداری غشای سلولی)، حفظ تعادل یونی و تعدیل پتانسیل اسمزی نقش دارد (Gurrieri et al., 2020). به عبارت دیگر، تجمع پرولین با کاهش پتانسیل اسمزی، سبب افزایش شیب پتانسیل آبی بین محیط ریشه (ریزوسفر) و بافت گیاهی شده و این شرایط، زمینه جذب آب از خاک را فراهم می‌کند. اما اتکای گیاهان به این ترکیب طبیعتاً هزینه‌بر بوده و موجب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Ji et al., 2022).

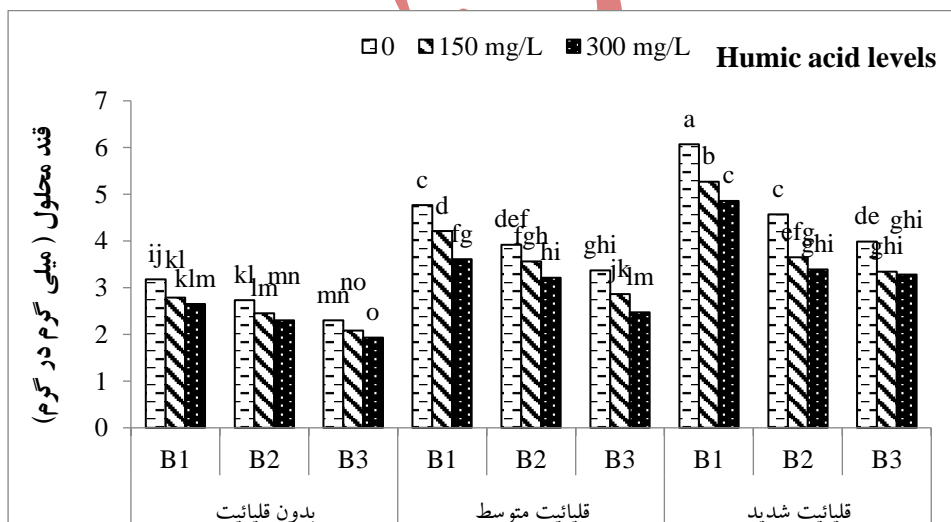
همچنین، در شرایط تنش قلیائیت، سمیت نمک‌های قلیایی و از جمله بی کربنات سدیم، باعث تحریک فعالیت آنزیم گلوتامین کیناز می‌شود. این اولین آنزیم مسیر بیوسنتز پرولین است و لذا موجب تولید و تجمع پرولین می‌گردد (Mane et al., 2011). به طور کلی می‌توان گفت که پرولین از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و مهار رادیکال‌های آزاد، تحمل گیاه در برابر تنش را بهبود می‌بخشد.

در مقابل، کاربرد بیوچار و اسید هیومیک موجب کاهش آثار تنش قلیائیت در گیاه ریحان و به تناسب آن، کاهش مقدار پرولین گردید. به عبارت دیگر، کمترین مقدار پرولین (۰/۹۱ میکرومول در گرم)، در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید هیومیک، ۳ درصد بیوچار و بدون قلیائیت به دست آمد. بر اساس نتایج، بیوچار تولیدی دارای مقادیر متناهی از پتاسیم، کلسیم و منیزیم (به ترتیب ۲/۲، ۴۸/۵ و ۶/۳ meq/100g) بود (جدول ۲). به عبارتی، آزاد شدن این یون‌های معدنی می‌تواند سبب کاهش قلیائیت ناشی از سدیم شود. همچنین، بیوچار به عنوان یک ماده آلی متخلخل و با سطح ویژه بالا (۲۶/۴ m²/g)، می‌تواند با حفظ و نگهداشت رطوبت در محیط ریشه، موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی و کاهش آثار اسمتیک یا عدم توازن یونی ناشی از تنش‌های شوری و قلیائیت در گیاهان شود (Zhang et al., 2020).

کاربرد اسید هیومیک نیز با القای تغییرات فیزیولوژیک، باعث کاهش اثرات منفی تنش قلیائیت و تولید پرولین در ریحان شد. به عبارت دیگر، اسید هیومیک ممکن است از طریق افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و به دنبال آن فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، بهبود فعالیت فتوسیستم II و یا کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، سبب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی و کاهش تولید پرولین شود (Vikram et al., 2022).

قندهای محلول

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین مقدار قندهای محلول (۶/۰۸ میلی گرم در گرم) در شرایط تنش شدید قلیائیت و بدون کاربرد اسید هیومیک و بیوچار به دست آمد (شکل ۲). افزایش غلظت قندهای محلول در شرایط تنش قلیائیت در واقع یک نوع پاسخ گیاه ریحان به تأثیر این تنش محیطی بر متابولیسم قندها و توزیع مواد فتوسنتزی است. این عمل معمولاً از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل قندها با زنجیره‌های قطبی پروتئین‌ها و در راستای پایدارسازی آن‌ها صورت می‌گیرد (Rosa et al., 2019).



B1, B2 و B3 به ترتیب بیانگر کاربرد بیوچار در سطوح ۰، ۱/۵ و ۳ درصد جرمی.

بدون قلیائیت، قلیائیت متوسط و شدید به ترتیب کاربرد بی‌کربنات سدیم در سطوح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار را نشان می‌دهد.

در هر ستون، میانگین‌های که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

شکل ۲. مقایسه میانگین اثرات بیوچار و اسید هیومیک بر میزان قندهای محلول ریحان تحت تنش قلیائیت

یک دلیل مهم دیگر افزایش قند محلول در شرایط بروز هر گونه تنش محیطی، تجزیه نشاسته به وسیله آنزیم آمیلاز است. به عبارتی، قندهای محلول به عنوان اسمولیت سبب افزایش شیب جریان آب به سلول شده و از طریق تنظیم محتوی آب، منجر به حفظ تورژانس سلول می گردند (Gurrieri et al., 2020).

کمترین مقدار قندهای محلول (۶/۰۸ میلی گرم در گرم) نیز در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید هیومیک، ۳ درصد بیوجار و بدون قلیائیت حاصل شد. به عبارت دیگر، بیوجار و اسید هیومیک سبب کاهش میزان قندهای محلول در اندامهای هوایی ریحان گردید. کاربرد بیوجار در خاک با آزادسازی و در دسترس قراردادن عناصر غذایی و نیز افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی و سطح ویژه خاک، موجب بهبود شرایط رشد گیاه می شود. به عبارتی، بیوجار با بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی خاک، به طور غیرمستقیم، کارایی گیاه در برابر تنش قلیائیت را افزایش داده و از این طریق، سبب کاهش تولید قند محلول در گیاه می شود (Rawat et al., 2019). همچنین، اسید هیومیک می تواند بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه تأثیر مثبت داشته و با افزایش جذب عناصر غذایی مثل نیتروژن و فسفر، موجب کاهش اثرات تنش بر گیاه و به دنبال آن کاهش تولید قندهای محلول در این شرایط شود (Chen et al., 2022).

مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید

بیشترین مقادیر کلروفیل های a و b و کاروتنوئید (به ترتیب ۰/۷۹، ۰/۵۵ و ۰/۸۱ میلی گرم در گرم) ریحان، در تیمار کاربرد بیوجار در سطح ۳ درصد، اسید هیومیک به میزان ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و بدون قلیائیت به دست آمد. به عبارت دیگر، کاربرد اسید هیومیک و بیوجار باعث افزایش رنگیزه های گیاهی، بویژه تحت شرایط قلیائیت شد. اسید هیومیک به دلیل افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می شود. همچنین، از طریق تأثیر بر فرایندهای فیزیولوژیکی و جذب عناصر غذایی، منجر به افزایش غلظت کلروفیل برگ گیاهان می گردد (Yang et al., 2014). در بین عناصر غذایی، نیتروژن سهم مهمی در سبزیگی گیاه دارد. بنابراین، با کاربرد اسید هیومیک، میزان جذب نیتروژن و به دنبال آن، میزان کلروفیل و فتوسنتز گیاه افزایش می یابد.

از جمله دلایل افزایش کلروفیل و سایر رنگیزه های گیاهی با کاربرد بیوجار در خاک، تأثیر مستقیم آن بر جذب منیزیم است که بخش مهمی از رنگدانه کلروفیل محسوب می شود (Jaborova et al., 2023). همچنین، بیوجار به طور غیرمستقیم و از طریق ترکیباتی مانند اسیدهای آلی، بر فراهمی سایر عناصر غذایی و از جمله نیتروژن تأثیر دارد (Zhang et al., 2020).

کمترین غلظت کلروفیل های a و b و کاروتنوئید (به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۲۲ و ۰/۲۸ میلی گرم در گرم)، در شرایط تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوجار و اسید هیومیک به دست آمد. به عبارت دیگر، یکی از آسیب های تنش قلیائیت بر گیاه دارویی ریحان، اثر آن بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی بود. pH بالای ناشی از نمک بی کربنات سدیم ممکن است با تجزیه ساختار کلروپلاست، موجب کاهش سنتز کلروفیل و به دنبال آن کاهش فتوسنتز گردد. این شرایط می تواند علاوه بر کاهش هدایت روزنه ای یا نرخ تعرق، با بسته شدن روزنه ها موجب کاهش نقل و انتقال آب و عناصر غذایی در گیاه، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل شود (Fatima et al., 2021). کاهش میزان کلروفیل در این شرایط، نشان دهنده وسعت آسیب های اکسیداتیو است (Pérez-Gálvez et al., 2020).

صفات مورفولوژیک بخش هوایی و ریشه ریحان

نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد اثرات متقابل تنش قلیائیت، بیوجار و اسید هیومیک بر جرم خشک شاخساره و ریشه در سطح یک درصد و بر صفات تعداد برگ، ارتفاع گیاه و محتوای نسبی آب برگ (RWC) در سطح پنج درصد معنی دار شد (جدول ۵).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات قلیائیت، بیوجار و اسید هیومیک بر ویژگی های بخش هوایی و ریشه ریحان

| منابع تغییرات | درجه آزادی | تعداد برگ | ارتفاع گیاه | RWC | جرم شاخساره | جرم ریشه |
|--------------------------------|------------|-----------|--------------------|--------------------|-------------|----------|
| قلیائیت | ۲ | ۱۸۶/۵** | ۷۸/۷** | ۱۶۹/۵** | ۰/۰۸۳** | ۰/۰۰۷** |
| بیوچار | ۲ | ۳۰۸/۷** | ۸۷/۱** | ۷۳۴/۹** | ۰/۴۷** | ۰/۰۳۸** |
| اسید هیومیک | ۲ | ۱۶۱/۳** | ۶۷/۳** | ۲۲۰/۵** | ۰/۴۱۲** | ۰/۰۶۱** |
| بیوچار × قلیائیت | ۴ | ۲۹/۵** | ۱۰/۶** | ۸/۹۱ ^{ns} | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۱** |
| قلیائیت × اسید هیومیک | ۴ | ۴/۶۴** | ۰/۳۵ ^{ns} | ۸/۹۶ ^{ns} | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۱** |
| اسید هیومیک × بیوچار | ۴ | ۱/۵۷* | ۲/۱۲** | ۷۰/۱** | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۰* |
| بیوچار × قلیائیت × اسید هیومیک | ۸ | ۱/۱۲* | ۱/۳۴* | ۷۸/۸** | ۰/۰۱** | ۰/۰۰۳** |
| خطا | ۵۴ | ۰/۴۷ | ۰/۴۴ | ۱۱/۹۵ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰۲ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۴/۵ | ۳/۷۲ | ۵/۵۷ | ۵/۹ | ۶/۰۷۳ |

ns, * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی داری در سطح پنج و یک درصد را نشان می‌دهد.

تعداد برگ

بیشترین تعداد برگ در بوته (۲۷ برگ) در تیمار ۳ درصد بیوچار، ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و بدون قلیائیت و کمترین آن (۹ برگ)، در شرایط تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوچار و اسید هیومیک به دست آمد. از مهم‌ترین اثرات تنش‌های محیطی بر گیاهان، کاهش ویژگی‌های رشدی می‌باشد. به عنوان مثال، pH بالای ناشی از نمک بی‌کربنات سدیم، ممکن است از طریق به هم زدن تعادل یونی و اثر نامطلوب بر تغذیه گیاه، سبب محدود شدن رشد رویشی و کاهش تعداد برگ شود (Mane et al., 2011). در مقابل، کاربرد اسید هیومیک یا بیوچار، با اصلاح شرایط جذب عناصر غذایی، باعث افزایش رشد بخش‌های مختلف گیاهان و از جمله تعداد برگ می‌شود.

جرم خشک شاخساره و ریشه

بیشترین جرم خشک شاخساره و ریشه (به ترتیب ۰/۱۸۸ و ۰/۳۹ گرم بر بوته) در تیمار بدون قلیائیت، ۳ درصد بیوچار و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و کمترین مقادیر (به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۱۴ گرم) در تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوچار و اسید هیومیک به دست آمد. نمک‌های مختلف و از جمله بی‌کربنات سدیم، از طریق افزایش پتانسیل اسمزی محلول خاک، منجر به کاهش جذب آب به وسیله ریشه و در نتیجه، کاهش تقسیم سلولی و رشد عمومی و جرم خشک شاخساره و ریشه می‌گردند (Abeer et al., 2015). همچنین، تنش‌های محیطی، با تولید گونه‌های فعال اکسیژن ممکن است منجر به اختلال در سیستم انتقال الکترون و یا تشدید فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در کلروپلاست و میتوکندری شده و به طور غیرمستقیم، موجب کاهش رشد کلی گیاه و جرم خشک بخش هوایی و ریشه گردند (Fatima et al., 2021). از طرف دیگر، استفاده از اسید هیومیک، با افزایش جذب آب و عناصر غذایی مانند روی، مس و آهن، باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود (Vikram et al., 2022). استفاده از بیوچار نیز از طریق تعدیل pH خاک، موجب بهبود جذب عناصر غذایی شده و یا با افزایش تخلخل و نگهداری رطوبت، می‌تواند باعث افزایش رشد بخش‌های مختلف گیاه گردد (Rawat et al., 2019).

ارتفاع گیاه

بیشترین ارتفاع گیاه (۲۳/۵ سانتی‌متر)، در تیمار بدون قلیائیت، ۳ درصد بیوچار و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و کمترین آن (۱۵ سانتی‌متر)، در شرایط تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوچار و اسید هیومیک به دست آمد. ارتفاع بوته یکی از شاخص‌های مهم رشدی گیاهان است که در اثر تنش نمک‌های مختلف کاهش می‌یابد. به عبارتی، گیاهان به غلظت‌های بالای بی‌کربنات

سدیم واکنش نشان می‌دهند و این موضوع معمولاً با کاهش ارتفاع گیاهان نمود پیدا می‌کند. اما کاربرد بیوچار و اسید هیومیک با بهبود شرایط و فراهم‌سازی زمینه جذب آب و عناصر غذایی، منجر به افزایش رشد و ارتفاع گیاهان می‌شوند.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

بیشترین محتوای نسبی آب برگ (۸۶/۴ درصد) در تیمار ۳ درصد بیوچار، ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و بدون قلیائیت و کمترین آن (۳۹/۹ درصد) در شرایط تنش شدید قلیائیت و عدم کاربرد بیوچار و اسید هیومیک به دست آمد. از مهم‌ترین پارامترهایی نشان‌دهنده واکنش گیاهان نسبت به تنش نمک‌های مختلف، کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌باشد. به عبارت دیگر، در گیاهان تحت تأثیر تنش بی‌کربنات سدیم، تولید هورمون اسید آبسزیک ممکن است باعث کاهش مقدار نسبی آب برگ شود (Li et al., 2009).

از طرف دیگر، استفاده از اسید هیومیک منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ ریحان شد. به عبارتی، نفوذ مولکول‌های اسید هیومیک به درون بافت‌های گیاهی و بعد تشکیل پیوند با مولکول‌های آب، تعرق گیاه را کاهش داده و با حفظ آب درون گیاه، محتوای نسبی آب برگ افزایش می‌یابد (Chen et al., 2022). افزودن بیوچار به خاک نیز با بهبود شرایط توسعه ریشه و یا افزایش رطوبت قابل دسترس، محتوای نسبی آب برگ را افزایش می‌دهد (تیموری و همکاران، ۱۴۰۰).

نتیجه‌گیری

نتایج بیانگر اثرات منفی تنش قلیائیت بر ویژگی‌های مورد مطالعه ریحان بود. افزایش مقادیر پرولین و قندهای محلول به‌هنگام تنش قلیائیت، بیانگر نوعی واکنش سازگاری گیاه در این شرایط است. در مقابل، سطوح مختلف بیوچار و اسید هیومیک توانست پارامترهای رشدی بخش هوایی و ریشه گیاه را تحت شرایط تنش قلیائیت افزایش دهد. به عبارتی، کاربرد بیوچار در خاک در سطح ۳ درصد جرمی و اسید هیومیک به صورت محلول‌پاشی در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر توانست ضمن کاهش اثرات قلیائیت، باعث بهبود ویژگی‌های رویشی ریحان گردد. به‌طور کلی، می‌توان گفت که کاربرد هم‌زمان بیوچار و اسید هیومیک یک راهکار مناسب، ارزان و اقتصادی در راستای کاهش اثرات تنش قلیائیت بر گیاه دارویی ریحان است.

منابع

انصاری، سنا؛ نعمتی، سیدحسین؛ شور، محمود و سلاح‌ورزی یحیی (۱۴۰۲). بررسی اثرات کاربرد بیوچار بر خصوصیات بیوشیمیایی و غلظت برخی از عناصر غذایی در شرایط تنش آب شور در گل رز (*Rosa hybrida*). فرآیند و کارکرد گیاهی. ۱۲ (۵۷)، ۴۰۲-۳۸۵

تیموری، آناهیتا؛ امیری نژاد، علی اشرف و قبادی، مختار (۱۴۰۰). نقش بیوچار و اسید سالیسیلیک بر کاهش تنش سرب در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.). رابطه خاک و گیاه. ۱۲ (۱)، ۹۵-۱۰۸

شریفی‌اصل، رضا؛ جاسمی‌منش، مهناز و میرزایی، محمد (۱۳۹۹). اثر هیومیک اسید بر رشد، عملکرد و برخی پارامترهای فیزیولوژیک گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری. فیزیولوژی محیطی گیاهی. ۱۵ (۵۷)، ۲۲-۱۰.

REFERENCES

Abeer, H. E., Abd Allah, A., Alqarawi, A., and Egamberdieva, D. (2015). Induction of salt stress tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Legume Research*, 38, 588-579. <https://doi.org/10.18805/lr.v38i5.5933>

Ain, Q., Shafiq, M., Capareda, S. C., and Barea, F. (2021). Effect of different temperatures on the properties of pyrolysis products of *Parthenium hysterophorus*. *Journal of Saudi Chemical Society*, 25(3), 101197. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101197>

- Ansari, S., Nemati, S. H., Shoor, M., and Selahvarzi, Y. (2023). Investigating the effects of biochar application on the biochemical characteristics and concentration of some nutrients under saltwater stress in rose (*Rosa hybrida*). *Plant Process and Function*, 12 (57), 385-402. <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1864-fa.html>. (In Persian).
- Barrow, N. J., and Shaw, T. C. (1976). Sodium bicarbonate as an extractant for soil phosphate, II. Effect of varying the conditions of extraction on the amount of phosphate initially displaced and on the secondary adsorption. *Geoderma*, 16(2), 109-123. [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(76\)90034-3](https://doi.org/10.1016/0016-7061(76)90034-3)
- Bates, L. S., Waldren, R. P., and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 29, 205-207
- Chen, Q., Qu, Z., Ma, G., Wang, W., Dai, J., Zhang, M., Wei, Z., and Liu, Z. (2022). Humic acid modulates growth, photosynthesis, hormone and osmolytes system of maize under drought conditions. *Agricultural Water Management*, 263, 107-117. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107447>
- Chiang, L. C., Ng, L. T., Cheng, P. W., Chiang, W., and Lin, C. C. (2005). Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32(10), 811-816. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2005.04270.x>.
- Chintala, R., Mollinedo, J., Schumacher, T. E., Malo, D., and Julson, J. L. (2013). Effect of biochars on chemical properties of acidic soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60, 393-404
- Dell'Agnola, G., Ferrari G., and Nardi, S. (1981). Antidote action of humic substances on atrazine inhibition of sulphate uptake in barley roots. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 15, 101-104.
- Fatima, A., Hussain, S., Hussain, S., Ali, B., Ashraf, U., Zulfiqar, U., Aslam, Z., Al-Robai, S. A., Alzahrani, F. O., Hano, C. and El-Esawi, M. (2021). Differential morphophysiological, biochemical, and molecular responses of maize hybrids to salinity and alkalinity stresses. *Agronomy*, 11(6),1150. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061150>
- Gong, B., Wen, D., Vanden Langenberg, K., Wei, M., Yang, F., Shi, Q. and Wang, X. (2013). Comparative effects of NaCl and NaHCO₃ stress on photosynthetic parameters, nutrient metabolism, and the antioxidant system in tomato leaves. *Scientia Horticulturae*, 157, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.03.032>
- Hosseinfard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, L., and Garnczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: A review. *International Journal of Molecular Science*, 23(9), 5186. <https://doi.org/10.3390/ijms23095186>
- Jaborrova, D., Abdrakhmanov, T., Jabbarov, Z., Abdullaev, S., Azimov, A., Mohamed, I., AlHarbi, M., Abu-Elsaoud, A., and Elkelish, A. (2023). Biochar improves the growth and physiological traits of alfalfa, amaranth and maize grown under salt stress. *Peer Journal*, 18, 11. <http://dx.doi.10.7717/peerj.15684>
- Ji, X., Tang, J., and Zhang, J. (2022). Effects of salt stress on the morphology, growth and physiological parameters of *Juglans microcarpa* L. *Plants*, 11,2381. <https://doi.org/10.3390/plants11182381>
- Jindo, K., Canellas, L. P., Albacete, A., Figueiredo, L., Frinhani Rocha, R. L., Carvalho Baia, D., Oliveira, N., Goron, T. L., and Olivares, F. L. (2020). Interaction between humic substances and plant hormones for phosphorous acquisition. *Agronomy*, 10(5), 640. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050640>
- Gurrieri, L., Merico, M., Trost, P., Forlani, G. and Sparla, F. (2020). Impact of drought on soluble sugars and free proline content in selected arabidopsis mutants. *Biology*, 9(11),367. <https://doi.org/10.3390/biology9110367>
- Kamari Shahmaleki, S., Peyvast, Q., and Olfati, J. (2010). Effects of humic acid on growth characteristics and absorption of nutrient elements of lettuce. *Journal of Horticultural Sciences*, 24(2), 149-153.

- Khan, M. B., Cui, X., Jilani, G., Tang, L., Lu, M., Cao, X., Sahito, Z.A., Hamid, Y., Hussain, B., Yang, X., and He, Z. (2022). New insight into the impact of biochar during vermi-stabilization of divergent biowastes: Literature synthesis and research pursuits. *Chemosphere*, 238, 124679. <https://doi.org/10.1016/j>
- Klute, A. (1986). *Methods of soil analysis: Part 1 and 2, Physical and chemical methods*. 2nd Edition, American Society of Agronomy; Soil Science Society of America, Madison, Wis., USA. ISBN: 9780891180883, 0891180885
- Kochert, G. (1978). *Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method*. In: Hellebust, J.A., & Craigie, J.S., (Ed) Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, Cambridge, pp.95-97
- Leng, L., Xiong, Q., Yang, L., Li, H., Zhou, Y., Zhang, W., Jiang, S., Li H., and Huang, H. (2021). An overview on engineering the surface area and porosity of biochar. *Science of Total Environment*, 763, 144-204. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144204>.
- Li, X., Liu, J., Zhang, Y. T., Lin, J., and Mu, C. (2009). Physiological responses and adaptive strategies of wheat seedlings to salt and alkali stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 55(5), 684-680. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00408.x>
- Lichtenthaler, H. K., and Wellburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Ma, C., Yuan, S., Xie, B., Li, Q., Wang, Q., and Shao, M. (2022). IAA plays an important role in alkaline stress tolerance by modulating root development and ROS detoxifying systems in rice plants. *International Journal of Molecular Science*, 26, 23, 14817. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232314817>
- Machado, R. M. A., and Serralheiro, R. P. (2017). Soil Salinity: Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030>
- Mane, A. V., Deshpande, T. V., Wagh, V. B., Karadge, B. A. and Samant, J. S. (2011). A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. *International Journal of Environmental Sciences*, 1(6), 1192-1216
- Pérez-Gálvez, A., Viera, I. and Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants*, 9(6), 505. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9060505>
- Premalatha, R. P., Poorna Bindu, J., Nivetha, E., Malarvizhi, P., Manorama, K., Parameswari, E. and Davamani, V. (2023). A review on biochar's effect on soil properties and crop growth. *Front Energy Research*, 11, 1092637. <http://dx.doi.org/10.3389/fenrg.2023.1092637>
- Rasouli-Sadaghiani, M. H., Vahedi R. and Barin, M. (2018). Effect of pruning waste biochar and compost a microbial inoculation on phosphorus availability. *Journal of Water and Soil*, 32(4), 709-722.
- Rawat, J., Saxena, J., and Sanwal, P. (2019). *Biochar: A sustainable approach for improving plant growth and soil properties*. In: Biochar, an imperative amendment for soil and the environment. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82151>
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30, 105-111. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1990>.

- Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, J. A., Hilal, M., and Prado, F. E. (2019). Soluble sugars: Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. *Plant Signaling & Behavior*, 4, 388–393. <https://doi.org/10.4161/psb.4.5.8294>
- Sayarer, M., Aytac, Z., and Kürkcüoğlu, M. (2023). The effect of irrigation and humic acid on the plant yield and quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under semi-arid ecological conditions. *Plants*, 12, 1522. <https://doi.org/10.3390/plants12071522>
- Sharifi Asl, R., Jasemi Manesh, M., and Mirzaie Haydari, M. (2020). The effect of humic acid on growth, yield, and some physiological parameters of wheat under salinity stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 15(57), 10-22. (In Persian).
- Silva, T., Silva Ribeiro, J. E., Nóbrega, J., and Gonçalves, A. (2023). Ecophysiology and growth of basil (*Ocimum basilicum*) under saline stress and salicylic acid. *Acta Biologica Colombiana*, 28(1). <https://doi.org/10.15446/abc.v28n1.97151>
- Singh, B., Camps-Arbestain, M. and Lehmann, J. (eds). (2017). *Biochar: A guide to analytical methods*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 310 pages. ISBN: 149876553X, 9781498765534
- Sparks, R.L. (1996). *Methods for Soil Analysis*, Part 3: Chemical methods, Soil Science Society of America, Madison 435-417.
- Teymouri, A., Amirinejad, A., and Ghobadi, M. (2021). The effects of biochar and salicylic acid on alleviation of Pb stress in salvia (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Soil and Plant Interactions*, 12(1), 95-108. <https://doi.org/10.47176/jspi.12.1.20161>. (In Persian).
- Vikram, N., Sagar, A. and Husain, R. (2022). *Properties of humic acid substances and their effect in soil quality and plant health*. In: Makan, A., Ed., *Humus and Humic Substances, Recent Advances*, IntechOpen, London. <https://doi.org/10.5772/intechopen.105803>
- Wang, Z., Shen, D., Wu, C., and Gu, S. (2018). State of the art on the production and application of carbon nanomaterial from biomass. *Green Chemistry*, 20, 5031-5057. <https://doi.org/10.1039/c8gc01748d>
- Yang, C. M., Wang, M. C., Lu, Y. F., Chang, F., and Chou, C. H. (2014). Humic substances affect the activity of chlorophylls. *Journal of Chemical Ecology*, 30, 1065-1057. <https://doi.org/10.1023/JOEC.82191>.
- Zewd I, and Siban M. (2021). The effects of alkalinity on physical and chemical properties of soil. *Journal of Plant Biology and Agriculture Science*, 3(2):1-5. <https://doi.org/10.36266/GJAST/141>
- Zhang, P., Yang, F., Zhang, H., Liu, L., Liu, X., Chen, J., Wang, X., Wang, Y., and Li, C. (2020). Beneficial effects of biochar-based organic fertilizer on nitrogen assimilation, antioxidant capacities, and photosynthesis of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under saline-alkaline stress. *Agronomy*, 10, 1562. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101562>

Effects of biochar and humic acid on reducing alkalinity stress in basil (*Ocimum basilicum* L.)

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Alkalinity is an important environmental stress that limits agricultural products in most arid and semi-arid regions of the world, including Iran. This stress is mainly caused by CO_3^{2-} and HCO_3^{-1} ions. In this situation, there are ionic damages on plant growth in addition to osmotic effects. One of the ways to reduce alkalinity stress in plants is the use of organic amendments such as biochar in the soil or foliar application of humic acid. In this

research, the effects of simultaneous application of biochar in the soil and foliar spraying with humic acid on the reduction of alkalinity stress in basil (*Ocimum basilicum*L.) were investigated.

Materials and methods

In order to investigate the effects of humic acid and biochar on reducing alkalinity stress in basil (*Ocimum basilicum*L.), a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications in 2022 in the greenhouse of Razi University. The factors included alkalinity stress at three levels (0, 50, and 100 mM as NaHCO₃ with irrigation water), biochar made of rapeseed wastes, at three levels (0, 1.5, and 3% by weight) and humic acid at three levels (0, 150, and 300 mg/L as foliar spray). Plastic pots with a height of 20 cm and a diameter of 20 cm containing 4.5 kg of soil were used. Based on the considered levels, rapeseed biochar was thoroughly mixed with the soil of each pot before planting. Twenty-five basil seeds were planted in a circle pattern at a depth of 2-3 cm. After the seeds germinated, 14 plants were left in each pot and the rest were removed. After the seedlings were fully established, at the 8-leaf stage, the first alkalinity treatment was carried out using at desired levels and then the pots were irrigated. The application of humic acid was carried out in the form of foliar spraying until the surface of the leaves was completely wet in the morning hours. The application of humic acid was done on two other occasions with an interval of 7 days. At the end of the growing period, some morphological and physiological parameters, including shoot height, root length, root and shoot dry weight, number of leaves per plant, amount of proline, soluble sugars, and plant pigments including chlorophyll a and b and carotenoids were measured and averaged for each pot.

Results and discussion

The results showed that the interaction effect of alkalinity stress, biochar and humic acid on most of the growth characteristics as well as the amounts of proline, soluble sugars and plant pigments were significant ($P \leq 0.01$). The highest shoot and root dry weight (0.88 and 0.39 g, respectively), shoot height (23.5 cm), root length (19.5 cm) and relative water content (86.4 %) were obtained without alkalinity stress and with application of 3% of biochar and 300 mg/L of humic acid. Also, the highest amount of proline (3.13 $\mu\text{mol/g}$) and soluble sugars (6.08 mg/g) were found under severe alkalinity stress (100 mM of NaHCO₃), without the use of biochar and humic acid. The highest amounts of chlorophylls a and b and carotenoids (0.79, 0.55 and 0.41 mg/g, respectively) were obtained without alkalinity stress and the use of biochar at the level of 3% and humic acid at the level of 300 mg g/L. The lowest values (0.25, 0.22 and 0.08 mg/g, respectively) were measured under conditions of severe alkalinity stress and no application of biochar and humic acid.

Conclusion

The results showed the negative effects of alkalinity stress on the physiological and morphological characteristics of basil. Likewise, the increase in the amount of proline and soluble sugars during alkalinity stress indicates a kind of adaptation reaction of the plant in these conditions. On the other hand, different levels of applied biochar and humic acid increased the growth parameters of aerial and plant roots under alkalinity stress. The application of biochar in the soil at the level of 3% by weight and humic acid in the form of foliar spraying at the level of 300 mg/L could improve the vegetative characteristics of basil and reduce the effects of alkalinity. In general, it can be said that the simultaneous use of biochar and humic acid is a simple, suitable and cheap strategy to reduce the adverse effects of alkaline stress in basil.

Keywords: Abiotic stress, medicinal plants, organic amendments, proline