



# به زراعی کشاورزی

دوره ۲۴ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۴۰۱

صفحه‌های ۵۸۲-۵۶۳

DOI: 10.22059/jci.2022.314936.2487

مقاله پژوهشی:

## بررسی تاثیر پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی گیاه ریحان تحت شرایط تنش خشکی

فرشته دارابی<sup>۱</sup>، نصرت‌الله عباسی<sup>۲\*</sup>، محمدجواد زارع<sup>۳</sup>

۱. دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲. استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۹/۲۸

### چکیده

هدف آزمایش بررسی و ارزیابی تأثیر پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید در تغییر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی جهت تحمل به تنش خشکی در گیاه ریحان بود. طرح به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های زراعی ۹۷-۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تیمار آبی در سه سطح (۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) در کرت‌های اصلی، محلول‌پاشی پوتریسین در سه سطح (صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار) و ۲۴-اپی‌براسینولید در سه سطح (صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار) به صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی اجرا شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان پرولین در تیمار آبی ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر در سال اول آزمایش حاصل شد و کاربرد پوتریسین (دو میلی‌مولار) و ۲۴-اپی‌براسینولید (۰/۵ میلی‌مولار) نیز سبب افزایش بیش‌تر میزان پرولین گیاه ریحان شد. در تیمار ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر و کاربرد دو میلی‌مولار پوتریسین بیش‌ترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر و بالاترین غلظت پوتریسین (دو میلی‌مولار) و ۲۴-اپی‌براسینولید (دو میلی‌مولار) مشاهده شد. در شرایط آبیاری مطلوب (۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر)، کاربرد هم‌زمان غلظت‌های کم‌تر پوتریسین (۰/۵ میلی‌مولار) و اپی‌براسینولید (۰/۵ میلی‌مولار) و در شرایط تنش خشکی (۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر)، غلظت بیش‌تر این دو ماده (دو میلی‌مولار پوتریسین و دو میلی‌مولار اپی‌براسینولید) باعث افزایش آنزیم گایاکول پراکسیداز شد. برهم‌کنش چندگانه سال، تنش خشکی، پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید تأثیر معنی‌داری بر فلاونوئید کل و درصد اسانس ریحان گذاشت به نحوی که در هر دو سال آزمایش، کاربرد غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میلی‌مولار ۲۴-اپی‌براسینولید در همه سطوح آبی به‌ویژه ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر، سبب افزایش بیش‌تر این دو صفت شد و در سال اول آزمایش این افزایش بیش‌تر از سال دوم بود. کاربرد هم‌زمان دو میلی‌مولار پوتریسین و دو میلی‌مولار اپی‌براسینولید به دلیل افزایش سنتز پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بهترین تیمار در جهت کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه ریحان بود، که نشان‌دهنده وجود رابطه هم‌افزایی بین این دو ماده در بهبود رشد گیاه ریحان و افزایش درصد اسانس این گیاه است.

**کلیدواژه‌ها:** اسانس، آنتی‌اکسیدان، پرولین، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز.

## The Effect of Putrescine and 24-Epibrasinolide on the Activity of Antioxidant Enzymes in Basil to under Drought Stress

Fereshteh Darabi<sup>1</sup>, Nosratollah Abbasi<sup>2\*</sup>, Mohammad Javad Zare<sup>3</sup>

1. Ph.D. in Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

Received: December 8, 2020

Accepted: December 19, 2021

### Abstract

This paper aims at evaluating the effects of putrescine and 24-epibrasinolide on altering the activity of antioxidant enzymes to tolerate drought stress in basil. The plan has been implemented as factorial split plot layout based on a randomized complete block design with three replications in the cropping years 2017-2018 and 2018-2019 at the research farm of the Faculty of Agriculture, Ilam University. Experimental treatments include drought stress at three levels (40, 80, and 120 mm evaporation from Class A evaporation pan) as the main plots, putrescine foliar application at three levels (0, 0.5, and 2 mM) and 24-Epibrasinolide foliar application at three levels (0, 0.5, and 2 μM) as subplots. Results show that the highest amount of proline in 120 mm occurs during the first year of the experiment and the use of putrescine (2 mM) and 24-epibrasinolide (0.5 μM) also cause a further increase in proline. The highest amount of catalase has been observed in the 120 mm evaporation treatment and the application of 2 mM putrescine. The interaction of drought stress, putrescine, and 24-epibrasinolide also show that the highest levels of ascorbate peroxidase and superoxide dismutase belong to the treatment of 120 mm where the highest concentrations of putrescine (2 mM) and 24-epibrasinolide (2 μM) is observed. Under optimal irrigation conditions (40 mm), the combined application of lower concentrations of putrescine (0.5 mM) and epibrasinolide (0.5 μM) and under drought stress conditions (80 and 120 mm), higher concentrations of these two substances (2 mM putrescine and 2 μM epibrasinolide) increase the enzyme guaiacol peroxidase. Multiple interactions of year, drought stress, putrescine, and 24-epibrasinolide have had a significant effect on total flavonoids and essential oil percentage of basil. In both experimental years, application of 2 mM putrescine and 2 μM 24-epibrasinolide at all levels of drought stress 120 mm cause a further increase in these two traits which has been greater in the first year than the second one. Concomitant use of 2 mM putrescine and 2 μM epibrasinolide due to increased proline synthesis and antioxidant enzymes is the best treatment to reduce the effects of drought stress in basil, indicating a synergistic relation between the two. The substance boosts the growth of basil, increasing the percentage of its essence.

**Keywords:** Catalase, essence, guaiacol peroxidase, proline, putrescine.

## ۱. مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum*) به طور گسترده‌ای در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان پراکنده شده است. گیاهان این جنس یک‌ساله و از تیره نعناعیان بوده و طول بوته آن به ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر می‌رسد، برگ‌های آن پهن بوده و به رنگ‌های سبز و یا ارغوانی روی ساقه آن قرار دارند، گل‌های کوچک سفید رنگ آن که خوشه‌ای می‌باشند، در اطراف یک محور قرار دارند (Momeni Monfared *et al.*, 2018). سهولت دگرگرده‌افشانی در جنس *Ocimum* باعث به وجود آمدن زیرگونه‌ها، واریته‌ها و فرم‌های متعددی در آن شده است و به همین دلیل تنوع بالایی در این جنس از نظر مورفولوژی و ترکیب‌های شیمیایی فعال وجود دارد (Khair-ul-Bariyah *et al.*, 2012). ترکیبات فنلی این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد (Iakovos *et al.*, 2020). تنش‌های غیرزنده مانند تنش خشکی منجر به تنش اکسایشی در گیاه شده و توانایی گیاه در کنترل سطح اکسیدکنندگی سبب تحمل به این شرایط می‌شود (Dhriti *et al.*, 2020). در شرایط تنش، فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی (مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتیون ردوکتاز، کاتالاز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند آسکوربیک‌اسید، گلوکاتیون، آلفا-توکوفرول و کاروتنوئیدها) و تولید اسمولیت‌های سازگار از جمله پرولین مهم‌ترین سازوکارهای محافظتی گیاه برای اجتناب از آسیب اکسیداتیو هستند که سبب محدود و یا خنثی کردن تولید و کارایی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Fathi & Barari Tari, 2016).

یکی از مناسب‌ترین روش‌ها جهت افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد بوده که سبب تغییر غلظت داخلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه می‌شوند (Anjum *et al.*, 2011). در این راستا،

پوتریسین و براسینواستروئیدها از مهم‌ترین مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد به‌شمار می‌روند (Bajguz & Hayat, 2009). پلی‌آمین‌ها (پوتریسین، اسپرمین و اسپرمیدین) با پاک‌سازی مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن خاصیت ضدآکسیدگی دارند (Dandan *et al.*, 2019). تحت شرایط تنش سطح پوتریسین گیاهان به میزان ۱/۲ درصد وزن خشک می‌رسد که نزدیک به ۲۰ درصد نیتروژن کل گیاه را تشکیل می‌دهد (Galston *et al.*, 1991).

براسینواستروئیدها هورمون‌های استروئیدی هستند که رشدونمو گیاه را تنظیم می‌کنند و سیستم‌های دفاعی گیاه را در برابر تنش‌های محیطی افزایش می‌دهند (Trevor *et al.*, 2020). از اثرات براسینواستروئیدها در زمان تنش خشکی بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی از جمله تنظیم بیان ژن‌های تولیدکننده آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز گزارش شده است (Anwar *et al.*, 2018). شناخت کنترل فعالیت این آنزیم‌ها در سلول‌های گیاهی می‌تواند نحوه فعالیت‌های آنزیمی در تنش‌های محیطی را بیان کند و این جهت بهینه‌سازی تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان می‌تواند مفید باشد.

محلول‌پاشی با پوتریسین بر گیاه بابونه آلمانی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های ضدآکسید، آسکوربات-پراکسیداز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و درصد اسانس شد (Nazarli *et al.*, 2015). بررسی تأثیر پلی‌آمین پوتریسین بر گیاه دارویی آویشن تحت تنش کم‌آبی سبب افزایش میزان پرولین و درصد اسانس این گیاه شد (Saffari *et al.*, 2016). هم‌چنین محلول‌پاشی پوتریسین تحت تنش خشکی بر گیاه جعفری مکزیکی بیانگر افزایش میزان پرولین، آنزیم گایاکول پراکسیداز و درصد اسانس بود (Arasteh *et al.*, 2020). اثر ۲۴-پی براسینولید بر گیاه مرزه تابستانه سبب افزایش میزان

مزرعه (عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری) در جدول (۱) و مشخصات آب‌وهوایی در جدول (۲) نشان داده شده است.

در هر کرت آزمایشی پنج ردیف کاشت به طول دو متر و با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بذور روی ردیف دو سانتی‌متر در نظر گرفته شد. تراکم بوته ۱۰۰ بوته در مترمربع (Nobahar *et al.*, 2014) بود. جهت جلوگیری از حرکت جانبی آب، اطراف هر کرت پشته‌هایی به عرض یک متر و فاصله بین کرت‌های مربوط به تیمارهای مختلف آبیاری دو متر ایجاد شد. کنترل علف‌های هرز به صورت وجین دستی انجام شد و به دلیل عدم وجود آفات و بیماری‌ها در طی مراحل اجرای آزمایش، هیچ‌گونه سموم آفت‌کشی استفاده نشد. محلول‌پاشی برگی تنظیم‌کننده‌های رشد پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید (تهیه‌شده از شرکت سیگما) در سه نوبت به فاصله ۷۲ ساعت یک‌بار و نزدیک به یک هفته قبل از آغاز اعمال سطوح آبیاری انجام گرفت. به منظور جذب بهتر ترکیبات، محلول‌پاشی در هنگام غروب آفتاب انجام شد. به منظور کاهش کشش سطحی آب و در نتیجه جذب بهتر، از ماده توئین<sup>۱</sup> ۲۰ رقیق‌شده به مخزن سم‌پاش اضافه شد و بوته‌های شاهد با آب مقطر و ماده توئین اضافه شده پاشش شدند. تیمارهای آبیاری بعد از استقرار کامل گیاهچه‌ها (۶-۷ برگی) اعمال شد.

میزان حجم آب مورد نیاز برای تیمارهای آبیاری با محاسبه ظرفیت زراعی مزرعه و نقطه پژمردگی دائم و میزان تبخیر از تشتک تبخیر با جایگزینی اعداد در رابطه‌ی مورد نظر (۱) محاسبه شد (Bucks *et al.*, 1982) هم‌چنین از طریق میزان تبخیر از تشتک تبخیر و محاسبه نیاز آبی گیاه و رابطه‌های (۲)، (۳) و (۴) دور آبیاری مشخص شد (Allen *et al.*, 1998).

فلاونوئید، پرولین و درصد اسانس شد (Khalifelouiy *et al.*, 2020). در گیاه گل همیشه‌بهار تحت شرایط کم‌آبی، محلول‌پاشی ۲۴-اپی‌براسینولید از طریق افزایش میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز سبب تحمل به کم‌آبی و هم‌چنین افزایش درصد اسانس این گیاه شد (Hemmati *et al.*, 2018).

بنابراین با توجه به این‌که گیاه ریحان یکی از گیاهان دارویی مهم است که بهبود عملکرد رویشی و اسانس آن دارای اهمیت است و از طرفی با توجه به کمبود منابع آب و افزایش شدت کم‌آبی در سال‌های اخیر و اثرهای مخرب این شرایط بر عملکرد گیاهان دارویی و اهمیت پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید به عنوان مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی در کاهش اثرهای کم‌آبی با سازوکار احتمالی تنظیم میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده و بهبود رشد و اسانس گیاه دارویی ریحان این پژوهش طراحی و اجرا شد.

## ۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت طرح اسپلیت‌پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در اردیبهشت‌ماه سال‌های ۹۷-۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۲۸ دقیقه، عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۷ دقیقه، ارتفاع از سطح دریا ۱۱۷۴ متر اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمار آبیاری در سه سطح (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) به عنوان عامل اصلی و سه سطح محلول‌پاشی پوتریسین (صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار) و ۲۴-اپی‌براسینولید (صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۲ میکرومولار) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

بافت	عمق (cm)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (dS.m <sup>-1</sup> )	روی (ppm)	مس (ppm)	منگنز (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	نیترژن کل (%)	کربن آلی (%)
لومی رسی	۰-۳۰	۷	۰/۳	۱/۰۸	۱/۲	۷/۹۶	۵۹۰	۷	۰/۱۸	۱/۸۳

جدول ۲. میانگین شاخص‌های آب‌وهوایی در طول دوره رشد گیاه ریحان مربوط به سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در شهرستان ایلام

سال	ماه‌های سال	میزان بارش (mm)	حداقل رطوبت نسبی (%)	حداکثر رطوبت نسبی (%)	میانگین حداقل درجه حرارت (°C)	میانگین حداکثر درجه حرارت (°C)
۱۳۹۶	فروردین	۱۴۰	۴۰	۸۶	۷/۶	۱۸/۷
	اردیبهشت	۱۹/۹	۲۰	۵۶	۱۲/۴	۲۷/۳
	خرداد	۰	۱۳	۳۴	۱۵/۷	۳۳
	تیر	۰	۱۳	۲۴	۲۱/۸	۳۸/۱
	مرداد	۰	۱۳	۲۲	۲۳/۲	۳۹/۱
	شهریور	۰	۱۳	۲۲	۲۰/۹	۳۶/۳
	مهر	۰	۱۵	۳۸	۱۲/۵	۲۷/۹
	آبان	۶۶/۷	۲۶	۵۷	۹/۵	۲۲/۴
	آذر	۲۱	۲۹	۷۲	۱/۹	۱۵/۷
	دی	۳۴	۳۲	۷۴	۲	۱۴/۱
۱۳۹۷	بهمن	۱۹۴/۸	۳۴	۷۴	۲/۲	۱۴
	اسفند	۸۴/۹	۳۷	۷۹	۴/۸	۱۶/۸
	فروردین	۱۰۳/۳	۲۸	۶۹	۸/۷	۲۱/۸
	اردیبهشت	۱۱۴/۹	۴۰	۸۴	۱۱	۲۲/۵
	خرداد	۰/۲	۱۷	۴۷	۱۶/۸	۳۲/۲
	تیر	۰	۱۴	۳۰	۲۱/۱	۳۷/۸
	مرداد	۰	۱۴	۳۵	۲۱/۲	۳۸/۲
	شهریور	۰	۱۳	۳۱	۱۹/۳	۳۶
	مهر	۴۵/۶	۲۰	۴۶	۱۵/۲	۲۹/۵
	آبان	۲۲۱	۴۵	۸۹	۷/۸	۱۸/۱

$V_w$  حجم آب آبیاری (مترمکعب)، FC درصد وزنی رطوبت خاک در حالت ظرفیت مزرعه، PWP درصد وزنی رطوبت خاک در حالت پژمردگی دائم، BD وزن مخصوص ظاهری خاک مزرعه (گرم بر سانتی‌مترمکعب، A مساحت کرت فرعی آزمایش (مترمربع)، D عمق ریشه

حجم آب ورودی به کرت‌ها با استفاده از کنتور که در ابتدای فلکه اصلی قرار داده شده بود، کنترل شد. آبیاری کرت‌های آزمایشی با استفاده از شیلنگ‌هایی که در ابتدای خطوط کاشت تعبیه شده بود، صورت گرفت.

$$V_w = \frac{(FC - PWP) \times BD \times A \times D \times MAD}{Ea} \quad (\text{رابطه ۱})$$

جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، پرولین و فلاونوئید در مرحله آغاز گلدهی پنج بوته به صورت تصادفی از خطوط میانی انتخاب و جهت اندازه‌گیری‌ها از برگ‌های قسمت بالایی بوته استفاده شد.

مقدار پرولین براساس روش Bates (1973) در طول موج ۵۲۰ نانومتر، سنجش محتوای فلاونوئید کل در طول موج ۴۱۵ نانومتر، فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (1984) در طول موج ۲۴۰ نانومتر، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش Change & Maehly (1955) در طول موج ۴۷۰ نانومتر و فعالیت آسکوربات پراکسیداز با روش Ranieri (2003) در طول موج ۲۹۰ نانومتر سنجیده شد. همچنین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز طبق روش Dhindsa (1981) در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-Visible-Cary-50 شرکت Varian ساخت کشور استرالیا) اندازه‌گیری شد.

جهت استخراج اسانس در مرحله گلدهی، برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار برداشت و در شرایط سایه خشک شد. پس از آسیاب کردن نمونه‌های گیاهی مورد نظر، استخراج اسانس توسط دستگاه کلونجر (مدل EM0500/C ساخت کشور ایران) با روش تقطیر با آب انجام شد. به این صورت که، ۵۰ گرم نمونه گیاهی پودر شده به دستگاه کلونجر انتقال داده و با ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر داخل حباب مخلوط و عمل حرارت‌دهی نمونه‌ها به مدت چهار ساعت صورت گرفت. از حلالی به نام دی اتیل اتر به علت چسبندگی اسانس به دیواره لوله شیشه‌های اسانس‌گیر استفاده شده که این حلال به راحتی اسانس را در خود حل کرده و سپس در اثر حرارت تصعید شده و اسانس بر جای مانده توسط سولفات سدیم خشک شد و در نهایت وزن و مقدار اسانس با ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن گردید و با استفاده از رابطه (۶) محاسبه شد (Dastborhan et al., 2011).

(متر)، MAD حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی (گرم بر سانتی‌متر مکعب)،  $E_a$  راندمان آب آبیاری.

$$ETC_0 = KC \times ET \quad (\text{رابطه } ۲)$$

$$ETO = KP \times ETP \quad (\text{رابطه } ۳)$$

ET تبخیر و تعرق گیاه مرجع، KP ضریب تشنگ تبخیر کلاس A، ETP میزان تبخیر روزانه از تشنگ تبخیر،  $ETC_0$  تبخیر و تعرق محصول، KC ضریب گیاهی ریحان. (رابطه ۴) = دور آبیاری

$$\frac{(\theta Fc - \theta PWP) \times D \times MAD \times BD}{ETC_0}$$

D عمق توسعه ریشه (میلی‌متر)، MAD حد مجاز تخلیه رطوبت برای گیاه ریحان، Pb وزن مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌متر مربع).

حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی برای گیاه ریحان حدود ۳۰ درصد توصیه شده است (Ekren et al., 2012). در این پژوهش از استوانه‌های فلزی مخصوص برای تعیین وزن مخصوص ظاهری خاک استفاده شد. با استفاده از این استوانه‌های فلزی، از خاک مزرعه نمونه‌ای دست‌نخورده تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. حجم استوانه‌های فلزی را با استفاده از سطح مقطع و ارتفاع استوانه به دست آورده، سپس استوانه حاوی نمونه خاک، همراه با درپوش‌ها، به محض ورود به آزمایشگاه توزین شدند. با استفاده از کاردک مقداری از خاک درون استوانه را برداشته و در تین‌های مخصوص اندازه‌گیری درصد رطوبت ریخته و توزین شدند. تین‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون و تحت حرارت ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده و دوباره توزین شدند و با استفاده از رابطه (۵) وزن مخصوص ظاهری را محاسبه نمودیم (Aria, 1997).

$$Pb = ms/V \quad (\text{رابطه } ۵)$$

Pb وزن مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌متر مکعب)، ms وزن خاک خشک موجود در استوانه (گرم)، V حجم استوانه (سانتی‌متر مکعب).

و ۴۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر مشاهده شد. در سال اول نسبت به سال دوم در ۴۰ و ۱۲۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر به ترتیب ۶/۴۴ و ۷/۵۵ درصد پرولین بیشتری تولید شد، اما در تنش متوسط (۸۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر) سال اول نسبت به سال دوم ۲/۱۰ درصد میزان پرولین کاهش یافت (شکل ۱). با توجه به اطلاعات هواشناسی (جدول ۲) که در سال اول میزان بارندگی کم تر و دما بیش تر بوده، احتمالاً به همین دلیل میزان پرولین در دو سال آزمایش تفاوت معنی داری داشته و در سال اول میزان پرولین افزایش بیشتری نشان داده است.

در این پژوهش غلظت ۲ و ۰/۵ میلی مولار پوتریسن تفاوت معنی داری بر میزان پرولین گیاه ریحان نداشتند، اما نسبت به عدم محلول پاشی پوتریسن سبب افزایش ۳/۵۷ درصدی میزان پرولین برگ ریحان شد (شکل ۲). هم چنین مقایسه میانگین اثر ساده اپی براسینولید نشان داد که کاربرد غلظت دو میکرومولار اپی براسینولید نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد اپی براسینولید) میزان پرولین گیاه ریحان ۱۱/۰۸ افزایش یافت (شکل ۲).

(رابطه ۶) = درصد اسانس

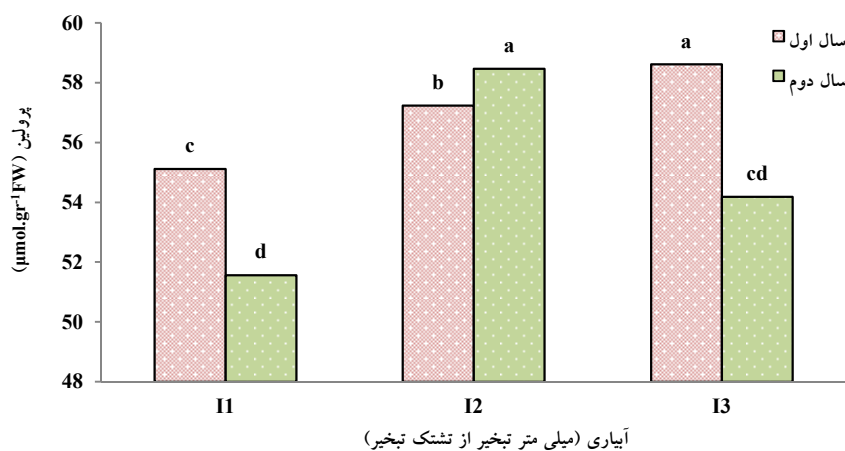
$100 \times \text{وزن خشک ماده اولیه} / \text{وزن اسانس}$

بر اساس نتیجه آزمون بارتلت تجزیه مرکب صورت گرفت و تجزیه واریانس مرکب داده ها و مقایسه میانگین ها با آزمون LSD با نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد و نمودارها در نرم افزار Excel (نسخه ۲۰۱۰) رسم شد.

### ۳. نتایج و بحث

#### ۳.۱. پرولین

طبق جدول تجزیه مرکب داده ها، میزان پرولین تحت تأثیر اثر متقابل سال  $\times$  تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد و اثر ساده پوتریسن و ۲۴- اپی براسینولید نیز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). روند تغییرات میزان تجمع پرولین حاکی از آن است در شرایط تنش، میزان پرولین افزایش و کاربرد پوتریسن و اپی براسینولید نیز سبب افزایش آن می شود. بیش ترین میزان پرولین با ۵۸/۴۷ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار ۱۲۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر سال اول آزمایش و کم ترین آن (۵۱/۵۷ میکرومول بر گرم وزن تر) در سال دوم آزمایش



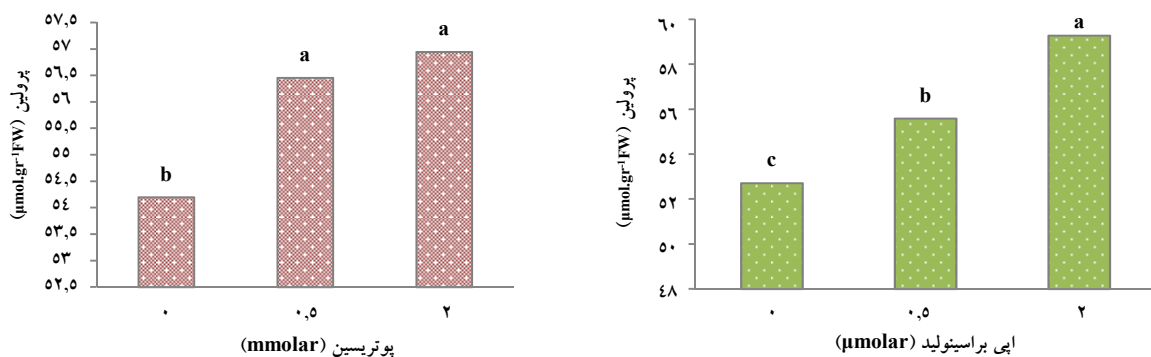
شکل ۱. اثر متقابل سال و تنش خشکی بر میزان پرولین گیاه ریحان

بررسی تأثیر پوتریسین و ۲۴- اپی‌براسینولید بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده گیاه ریحان تحت شرایط تنش خشکی

جدول ۳. تجزیه مرکب (میانگین مربعات) اثر سطوح مختلف تیمارهای تنش خشکی، پوتریسین و اپی‌براسینولید بر آنزیم‌های ضد اکسنده و اسانس گیاه ریحان در سال‌های زراعی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷

درجه آزادی	پرویلین	فلاوونوئید کل	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	گایکول پراکسیداز	عملکرد اسانس	درصد اسانس	منبع تغییرات
۱	۲۰۵/۸۱ns	۰/۰۰۵۵ns	۰/۰۰۰۰۰۰۸۴ns	۰/۰۱۸۰۹**	۵/۰۰۳**	۰/۰۰۰۰۶۷**	۶۸۲/۲۶ns	۰/۰۶۵۵۳**	سال
۲	۱۷/۴ns	۱/۸۴۹۳**	۰/۰۰۰۰۰۰۳۷ns	۰/۰۰۰۰۲۹ns	۰/۸۶۶ns	۰/۰۰۰۱*	۲۱۰۶/۴۹ns	۰/۶۳۵۹**	بلوک
۲	۱۱/۶۶	۰/۰۱۷۳۸	۰/۰۰۰۰۰۰۸۷	۰/۰۰۰۰۲۹	۰/۰۴۹	۰/۰۰۰۰۲۴	۱۲۸۳/۱۱	۰/۰۰۰۳۰۳	بلوک (سال)
۲	۲۸۵/۵۵**	۱/۰۴۵۳**	۰/۰۰۰۰۰۵۲**	۰/۰۳۳۸**	۱۰/۶۳۲**	۰/۰۰۰۷۵۶**	۸۱۶۰/۲۶**	۰/۶۷۸۸۹**	تنش خشکی
۲	۱۲۵/۵۱**	۰/۲۹۲۹۸ns	۰/۰۰۰۰۰۰۲۸ns	۰/۰۰۰۰۵۵ns	۰/۸۴۹**	۰/۰۰۰۰۰۲ns	۱۵۳۶/۶۲ns	۰/۰۲۱۲۷۵*	سال × تنش خشکی
۸	۱۴/۵۴	۰/۲۹۸۸۰۵	۰/۰۰۰۰۰۰۱۹۱	۰/۰۰۰۰۹۵۹	۰/۱۸۳	۰/۰۰۰۰۳۵	۴۱۲/۹۶	۰/۰۰۳۹۹۸	خطای اصلی
۲	۱۱۶/۳۸**	۲/۲۳۳۷**	۰/۰۰۰۰۰۰۲۳ns	۰/۰۰۲۴۹۷**	۲/۱۶۱**	۰/۰۰۱۷**	۱۱۲۳۰/۶۷**	۰/۱۴۲۸۱**	پوتریسین
۲	۵۸۵/۶۴**	۳/۹۶۶۵۴**	۰/۰۰۰۰۰۰۵۶*	۰/۰۰۳۱۳**	۰/۵۷۷**	۰/۰۰۰۷۴**	۲۱۱۰۷/۶۷**	۰/۱۴۹۷۸**	اپی‌براسینولید
۴	۹/۷۶ns	۰/۳۹۲۶۱ns	۰/۰۰۰۰۱۳۶**	۰/۰۰۱۰۷۵**	۰/۹۰۹**	۰/۰۰۰۳۶**	۲۸۴۵۸/۰۱**	۰/۶۱۵۵۴**	تنش خشکی × پوتریسین
۴	۱۳/۰۳ns	۰/۶۱۸۴۶ns	۰/۰۰۰۰۰۰۱۶۶ns	۰/۰۰۱۶۲۹**	۰/۴۷۶**	۰/۰۰۰۲۳**	۷۷۱۶/۱۹**	۰/۱۶۲۱۹**	تنش خشکی × اپی‌براسینولید
۴	۲۴/۱۵ns	۰/۰۳۹۴۷**	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶۷ns	۰/۰۰۰۲۱۴۱۵ns	۰/۳۸۶**	۰/۰۰۰۱۴**	۲۳۵۰۴/۰۹**	۰/۱۸۷۰۲**	پوتریسین × اپی‌براسینولید
۲	۶ns	۰/۴۴۶۲۵ns	۰/۰۰۰۰۰۰۱۵ns	۰/۰۰۰۰۲۴۱۹ns	۰/۰۲۱ns	۰/۰۰۰۳۸**	۴۶۹۴**	۰/۰۰۰۵۱۲ns	پوتریسین × سال
۲	۷/۷ns	۲/۷۵۹**	۰/۰۰۰۰۰۰۴۷*	۰/۰۰۰۱۸۴۴ns	۰/۰۰۱۷ns	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶ns	۶۷۶۳۲/۴۴**	۰/۵۵۴۷۹**	اپی‌براسینولید × سال
۸	۱۶/۵۷ns	۰/۷۷۸۴**	۰/۰۰۰۰۰۰۰۲۶ns	۰/۰۰۰۴۸۰۴**	۰/۲۴۸**	۰/۰۰۰۰۰۰۴۸ns	۳۰۶۳۷/۸۹**	۰/۲۳۴۳۶**	تنش خشکی × پوتریسین × اپی‌براسینولید
۴	۸/۴۷ns	۱/۶۳۲۴**	۰/۰۰۰۰۰۰۰۲۵ns	۰/۰۰۰۱۶۶۳ns	۰/۰۲۱ns	۰/۰۰۰۰۰۰۲۴ns	۴۹۶۷/۲۴**	۰/۰۰۰۴۲۶ns	سال × تنش خشکی × پوتریسین
۴	۵/۷۷ns	۰/۴۴۴۲۲ns	۰/۰۰۰۰۰۰۰۸۷ns	۰/۰۰۰۳۸۴۴ns	۰/۰۱۷ns	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶ns	۷۲۴۳۸/۷**	۰/۶۰۵۹۸۱**	سال × تنش خشکی × اپی‌براسینولید
۴	۱/۹۹ns	۰/۵۷۲۳۱ns	۰/۰۰۰۰۰۰۰۳۹ns	۰/۰۰۰۰۵۴۱ns	۰/۰۱۹۵ns	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶ns	۷۴۳۷۰/۹۴**	۰/۵۶۳۵۷۹**	سال × پوتریسین × اپی‌براسینولید
۸	۶/۷ns	۱/۰۳۷۲۵**	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵۹ns	۰/۰۰۰۰۵۲۳۴ns	۰/۰۱۹۵ns	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶ns	۶۷۸۷۳/۱۹**	۰/۵۰۷۷۸۷**	سال × تنش خشکی × پوتریسین × اپی‌براسینولید
۹۶	۱۰/۱۹	۰/۲۷۹۵	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵۱	۰/۰۰۰۰۱۴	۰/۰۶۴۹	۰/۰۰۰۳۴	۳۹۸/۵۸	۰/۰۰۸۷۸	اشتباه آزمایشی
	۵/۷۱	۱۲/۶۵	۱۴/۳۷	۱۴/۳۱	۷/۲۹	۱۷/۶۷	۱۵/۷۷	۲۴/۸۶	ضریب تغییرات (%)

ns, \*\* و \*\*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.



شکل ۲. اثر ساده پوتریسین (سمت چپ) و اپی‌براسینولید (سمت راست) بر میزان پرویلین گیاه ریحان

کم تر اپی براسینولید (۰/۵ میکرومولار) میزان فلاونوئید افزایش بیش تری داشته اما در دیگر سطوح آبیاری (۸۰ و ۱۲۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر) و پوتریسین (صفر و دو میلی مولار)، غلظت بیش تر اپی براسینولید (۲ میکرومولار) در افزایش فلاونوئید برتری داشت. بیش ترین میزان فلاونوئید در تیمار اثر متقابل ۱۲۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر، ۲ میلی مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی براسینولید در سال دوم آزمایش (۵/۹۲ درصد جذب) و کم ترین میزان نیز در ترکیب تیماری ۴۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر، عدم محلول پاشی (شاهد) در سال دوم آزمایش (۲/۳۲ درصد جذب) حاصل شد (شکل ۳).

میزان فلاونوئید تحت تأثیر ترکیب تیماری دو میلی مولار پوتریسین و دو میکرومولار اپی براسینولید نسبت به شاهد (عدم محلول پاشی) در شرایط ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر به ترتیب در سال اول آزمایش ۴۹/۷، ۳۳/۸، ۲۹/۸ درصد و در سال دوم آزمایش ۵۵/۵، ۳۵/۵ و ۳۷/۳ درصد افزایش داشت (شکل ۳).

در مطالعه حاضر، افزایش فلاونوئید کل در اثر خشکی ممکن است گویای این مطلب باشد که گیاه ریحان برای مقابله با اثرات نامطلوب تنش خشکی، مقادیر زیادی فلاونوئید تولید می کند. یکی از دلایل افزایش میزان انتقال الکترون فتوسنتزی می باشد که باعث تغییرات متابولیک در گیاه از جمله القای سنتز فلاونوئیدها برای تعدیل این وضعیت است که به واسطه آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز<sup>۱</sup> صورت می گیرد (Chegini et al., 2017). تنظیم کننده های رشد مانند پوتریسین و اپی براسینولید احتمالاً از طریق بیان ژن های جدید و فعال کردن مسیرهای بیوسنتزی آنزیم ها سبب تولید متابولیت های ثانویه می شود.

تجزیه پروتئین ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها تحت تنش خشکی افزایش می یابد که پرولین یکی از این آمینواسیدها است که در حفظ تعادل اسمزی، حفاظت غشا و درشت مولکول ها نقش مهمی دارد (Tuteja & Mahajan, 2005). تنش خشکی موجب افزایش میزان سنتز پرولین در گیاه ریحان (Esmailpour et al., 2019)، سرخارگل (Soltanian et al., 2010)، مریم گلی (Mazarie et al., 2019) و سیاهدانه (Farhoudi et al., 2017) شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. نتایج پژوهش Saffari et al. (2016) نشان داد که محلول پاشی پوتریسین در شرایط تنش خشکی سبب افزایش معنی دار پرولین در گیاه آویشن شد که با نتایج این پژوهش در سال اول آزمایش همسو می باشد. براسینواستروئید به واسطه افزایش آنزیم های دلتا-۱-پرولین ۵-کربوکسیلات سنتاز<sup>۱</sup> و پرولین ۵-کربوکسید استاز ردوکتاز<sup>۲</sup> باعث افزایش پرولین در سلول می شود (Li et al., 2011). در آزمایش های Khalifelouiy et al. (2020) در گیاه مرزه تأثیر مثبت استفاده از ۲۴-اپی براسینولید بر روی تجمع میزان پرولین در طی تنش گزارش شده است.

### ۲.۳. فلاونوئید کل

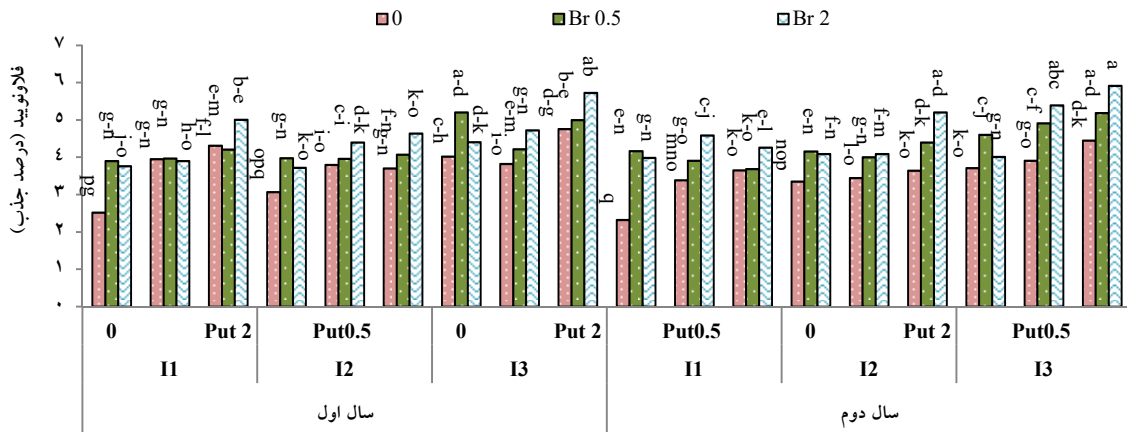
اثر متقابل سال × تنش خشکی × پوتریسین × اپی براسینولید بر میزان فلاونوئید گیاه ریحان در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). در هر دو سال آزمایش تیمار تنش خشکی سبب افزایش تجمع فلاونوئید در گیاه شد و کاربرد پوتریسین (۲ میلی مولار) و اپی براسینولید (۲ میکرومولار) نیز غلظت فلاونوئید را افزایش داد (شکل ۳). در هر دو سال آزمایش در شرایط ۴۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر و عدم محلول پاشی پوتریسین، غلظت

3. Phenylalanine ammonia lyase

1.  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase  
2. Pyrroline-5-carboxylate reductase



بررسی تأثیر پوترسین و ۲۴- اپی‌براسینولید بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی گیاه ریحان تحت شرایط تنش خشکی



شکل ۳. اثر برهم‌کنش سال تنش خشکی، پوترسین و اپی‌براسینولید بر میزان فلاونوئید گیاه ریحان

اپی‌براسینولید × سال در سطح پنج درصد بر محتوای آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳). کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی در حذف و پاک‌سازی پراکسید هیدروژن تولیدشده در پراکسی‌زوم‌ها و کاهش اثرات تخریبی گونه‌های فعال اکسیژن نقش برجسته‌ای دارد (Simova-Stoilova *et al.*, 2008). با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافته و محلول‌پاشی پوترسین سبب افزایش مقدار آنزیم کاتالاز شد. بیش‌ترین میزان آنزیم کاتالاز (۰/۰۱۱۷۵ میلی‌گرم پروتین در دقیقه) در تیمار ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر و کاربرد دو میلی‌مولار پوترسین و کم‌ترین مقدار آن (۰/۰۰۷۹۹ میلی‌گرم پروتین در دقیقه) در تیمار آبیاری مطلوب (۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک) مشاهده شد (شکل ۴).

تیمار دو میلی‌مولار پوترسین نسبت به شاهد در شرایط ۴۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به‌ترتیب سبب افزایش ۱۱/۷۱ و ۱۹/۶۷ درصدی میزان آنزیم کاتالاز شد (شکل ۴). محلول‌پاشی اپی‌براسینولید در هر دو سال آزمایش سبب افزایش آنزیم کاتالاز شد و این افزایش در سال اول آزمایش بیش‌تر از سال دوم بود (شکل ۵). تیمار دو میکرومولار اپی‌براسینولید نسبت به

آنزیم پوترسین N-متیل ترانسفراز<sup>۱</sup>، متیلاسیون دی‌آمین پوترسین<sup>۲</sup> را کاتالیز می‌کند و سوسترای اصلی این آنزیم پوترسین و سوسترهای فرعی آن موادی مانند S-آدنوزیل متیونین و S-آدنوزیل متیونین دکربوکسیله می‌باشد که فرآورده حاصل از فعالیت این آنزیم ماده N-متیل پوترسین می‌باشد که اولین ماده متابولیت اختصاصی در مسیر سنتز آلکالوئیدهای نیکوتین، تروپان و نورتروپان به‌شمار می‌رود (Flores *et al.*, 1989).

Rezaei *et al.* (2018) گزارش کردند که اپی‌براسینولید فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مقابله‌کننده با تنش اکسیداتیو مثل آنتوسیانین، فلاونوئید و ترکیبات فنولی را افزایش می‌دهد. بررسی اثرات محلول‌پاشی ۲۴- اپی‌براسینولید بر معیارهای رشدی مختلف و ویژگی‌های بیوشیمیایی مرزه تابستانه تحت تنش خشکی، نشان داد که محلول‌پاشی این ماده سبب افزایش میزان فلاونوئید نسبت به شاهد شد (Khalifelouiy *et al.*, 2020).

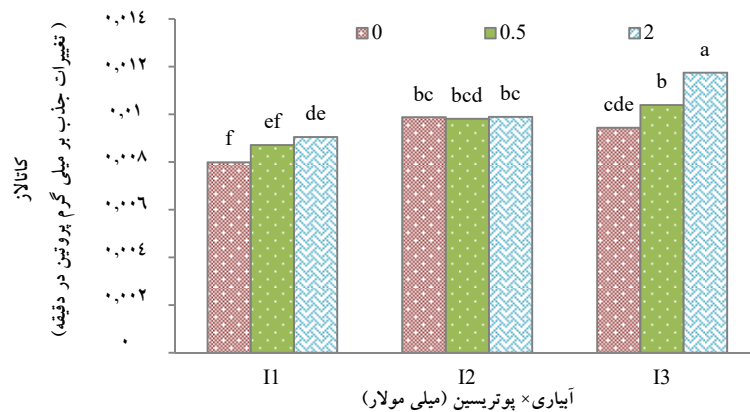
### ۳.۳. کاتالاز

اثر متقابل تنش خشکی × پوترسین در سطح یک درصد و

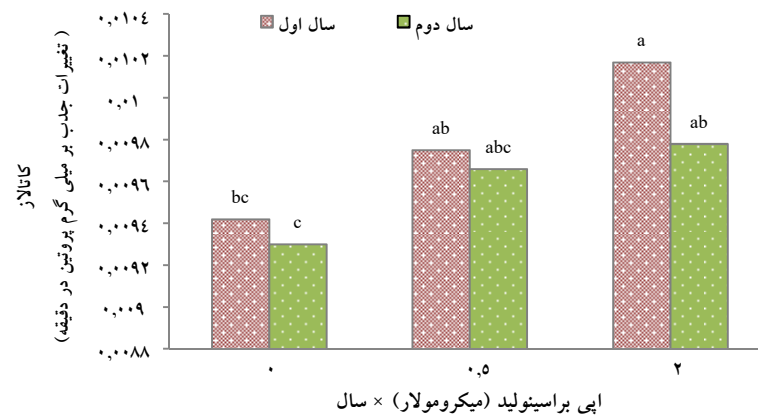
1. Putrescine N-methyltransferases
2. Diamine putrescine

نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات جهت تثبیت دی اکسید کربن در چرخه کالوین در این اندامک کم شده و منجر به بسته شدن زنجیره انتقال الکترون شده و در نهایت سبب افزایش تولید فرم های فعال اکسیژن می شوند (Mittler et al., 2004). سلول های گیاهی دارای مکانیسم های دفاعی ویژه ای جهت مقابله با اثرات منفی تنش های محیطی هستند مانند سنتز آنزیم های آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز) که افزایش میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز به کاهش تنفس نوری و نقطه جبرانی دی اکسید کربن کمک می کند (Siosemardeh et al., 2014).

۰/۵ میکرومولار و شاهد در سال اول به ترتیب ۴/۱۲، ۷/۳۷ درصد و در سال دوم ۱/۲۲ و ۴/۹ درصد میزان فعالیت این آنزیم را افزایش داد (شکل ۵). در سال اول آزمایش میزان آنزیم کاتالاز بیش تر بود که احتمالاً به دلیل افزایش بیش تر درجه حرارت هوا بوده است. این امر نشان می دهد که پوتریسین و اپی براسینولید سبب تحریک بیوسنتز آنزیم های ضد اکسندگی در شرایط تنش خشکی شده است. در هنگام تنش خشکی، کلروپلاست یکی از مکان های اصلی تولید فرم های فعال اکسیژن می باشد، چون در اثر بسته شدن روزنه ها نسبت دلیل عدم مصرف



شکل ۴. اثر برهم کنش تنش خشکی و پوتریسین بر میزان آنزیم کاتالاز گیاه ریحان

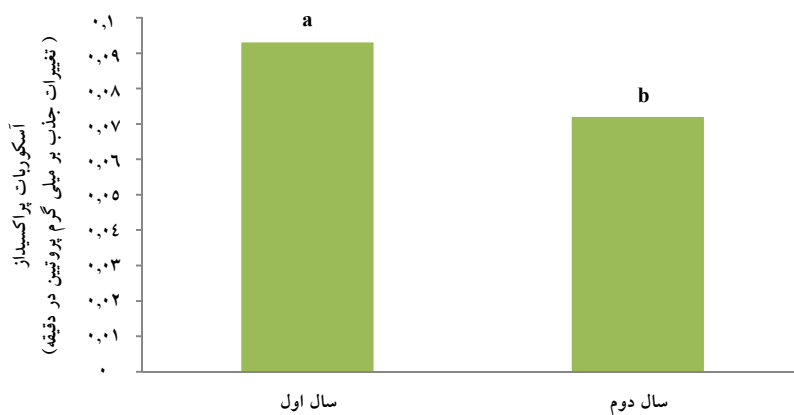


شکل ۵. اثر برهم کنش سال و بر میزان آنزیم کاتالاز گیاه ریحان

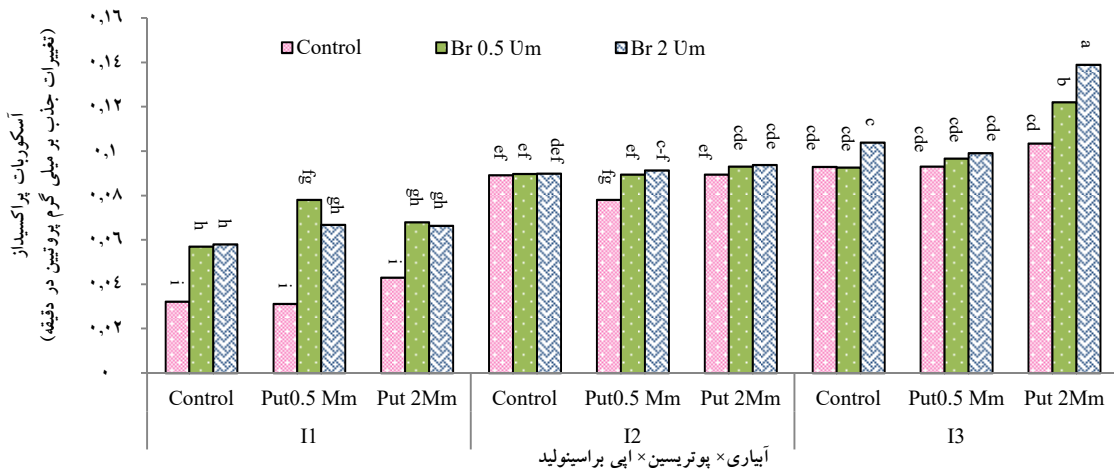
کاهش اثرات تخریبی تنش خشکی از طریق افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه دارویی پونه معطر (Afsharmohammadian et al., 2016)، پنیوک (Kashefi et al., 2019) و سیاه‌دانه (Kabiri et al., 2014) مشاهده شده است. پلی‌آمین‌ها احتمالاً به‌عنوان مولکول‌های پیام‌رسان، زنجیره‌ای از واکنش‌های دفاعی را راه‌اندازی می‌کنند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یکی از نتایج آن است (Ameri et al., 2015). Parvin et al. (2014) گزارش کردند که اثرات محلول‌پاشی برگ‌ی پلی‌آمین‌ها بر روی گیاه دارویی جینسینگ در شرایط تنش خشکی از طریق ممانعت از تجزیه کلروفیل و افزایش سطوح پلی‌آمین‌ها، هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز باعث بهبود در رشد گیاهچه شد. نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر با نتایج سایر پژوهش‌ها مطابقت دارد (Alcazar et al., 2010; Yiu et al., 2009; Zhang et al., 2009). کاربرد پوتریسین در بایونه آلمانی نیز به‌ترتیب سبب افزایش آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز شد (Nazarli et al., 2015). براسینولیدها از طریق تولید مولکول‌های واسطه (حدواسط) مانند نیتریک اکسید و تأثیر بر بیوستز آبسزیک‌اسید و افزایش سطح داخلی این هورمون سبب القای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (Zhang et al., 2010). شدت یافتن فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تیمارشده با براسینولید به‌دلیل افزایش بیان ژن و سنتز این آنزیم است (Gao et al., 2010).

### ۴.۳. آسکوربات پراکسیداز

آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اثر ساده سال و اثر متقابل خشکی × پوتریسین × اپی‌براسینولید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار قرار گرفت (جدول ۳). میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سال اول بیش‌تر از سال دوم بود (شکل ۶). با افزایش تنش خشکی میزان این آنزیم افزایش یافته و محلول‌پاشی پوتریسین و اپی‌براسینولید سبب افزایش این آنزیم در همه سطوح آبیاری شد. بیش‌ترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۱۳۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر و بالاترین غلظت پوتریسین (دو میلی‌مولار) و اپی‌براسینولید (دو میکرومولار) و کم‌ترین آن (۰/۳۲۲ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار شاهد ۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر مشاهده شد (شکل ۷). کاربرد هم‌زمان ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید نسبت به تیمار شاهد در شرایط ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر میزان آنزیم کاتالاز را به‌ترتیب ۵۱/۴۳، ۴/۹ و ۳۳/۱۶ درصد افزایش داد (شکل ۷).



شکل ۶. اثر سال بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه ریحان



شکل ۷. اثر متقابل خشکی، پوتریسین و اپی‌براسینولید بر میزان آنزیم پراکسیداز گیاه ریحان

افزایش بیش‌تر این آنزیم در هر سه سطح تیمار آبیاری شدند. در شرایط آبیاری مطلوب (۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر)، کاربرد هم‌زمان غلظت‌های کم‌تر پوتریسین (۰/۵ میلی‌مولار) و اپی‌براسینولید (۰/۵ میکرومولار) و در شرایط ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر، غلظت بیش‌تر این دو ماده (دو میلی‌مولار پوتریسین و دو میکرومولار اپی‌براسینولید) سبب افزایش آنزیم گایاکول پراکسیداز شد (شکل ۸).

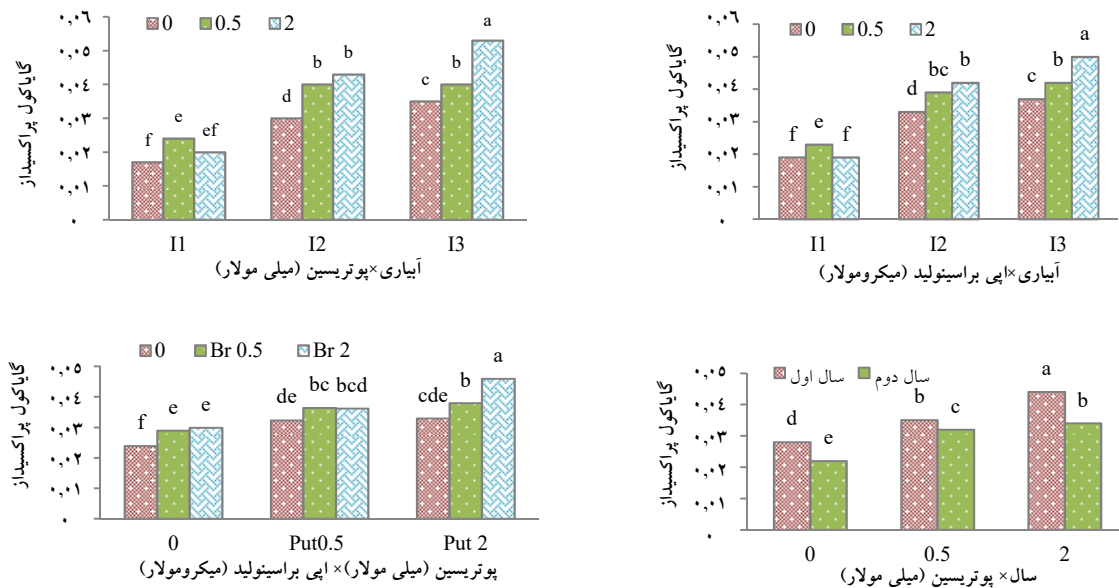
کاربرد هم‌زمان پوتریسین و اپی‌براسینولید نیز توانست تأثیر افزایشی بر آنزیم گایاکول پراکسیداز داشته باشد، به‌طوری‌که در هر سه سطح پوتریسین غلظت بیش‌تر اپی‌براسینولید (۲ میکرومولار) آنزیم گایاکول پراکسیداز بیش‌تری حاصل شد (شکل ۸). اثر متقابل سال × پوتریسین نیز گویای افزایش بیش‌تر این آنزیم در همه سطوح پوتریسین بخصوص غلظت ۲ میلی‌مولار در سال اول نسبت به سال دوم آزمایش است (شکل ۶)، که می‌تواند به‌علت افزایش بیش‌تر درجه حرارت در سال اول آزمایش بوده که احتمالاً سبب نشت‌پذیری بیش‌تر غشای سلولی و افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نهایت افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده است.

در شرایط تنش آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز نقش کلیدی در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن هیدروژن پراکسید دارند. این آنزیم به‌عنوان سوبسترا برای واکنش مصرف شده و میل ترکیبی این آن با هیدروژن پراکسید بسیار بالاست، بنابراین در شرایط تنش خشکی فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد (Saglam *et al.*, 2011; Zali *et al.*, 2016). کاربرد پوتریسین سبب افزایش آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه استویا شد (Gerami *et al.*, 2019). گزارش‌های متعددی وجود دارد که بیان‌کننده این است که کاربرد براسینواستروئیدها میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در گیاهان تحت تنش افزایش می‌دهد (Fariduddin *et al.*, 2009).

### ۳.۵. گایاکول پراکسیداز

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اثر دو عامله تنش خشکی × پوتریسین، تنش خشکی × اپی‌براسینولید، پوتریسین × اپی‌براسینولید و اثر سال × پوتریسین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). تنش خشکی میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه ریحان را افزایش داد و محلول‌پاشی پوتریسین و اپی‌براسینولید نیز سبب

بررسی تأثیر پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده گیاه ریحان تحت شرایط تنش خشکی

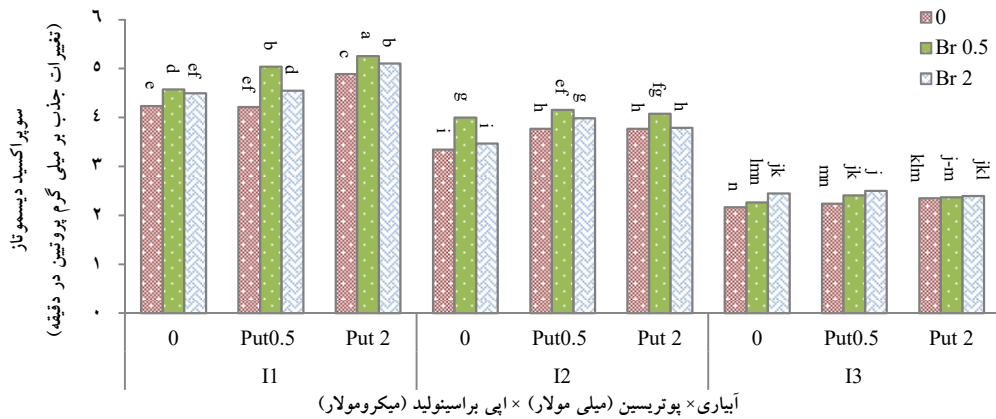


شکل ۸. اثر متقابل تنش خشکی × پوتریسینتنش خشکی × اپی‌براسینولید، پوتریسین × اپی‌براسینولید و سال × پوتریسین بر میزان آنزیم گیاکول پراکسیداز گیاه ریحان

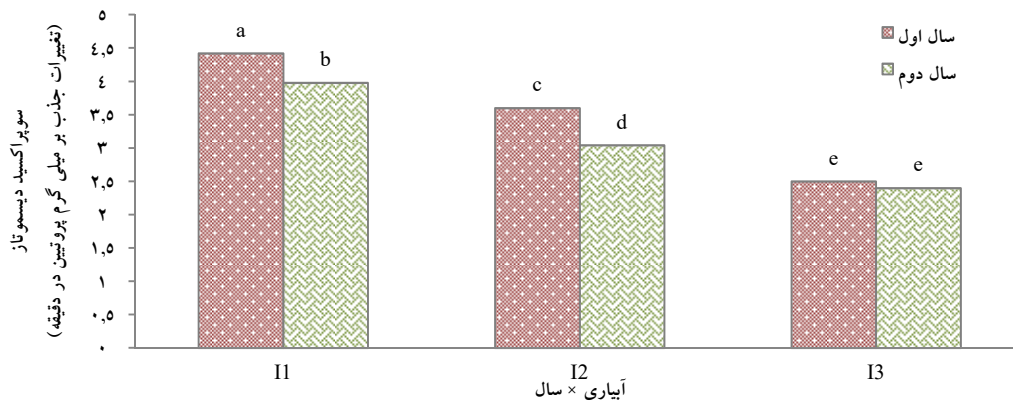
تبخیر غلظت بیش‌تر هر دو ماده (۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید) سبب افزایش ۹/۵۸ درصدی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد (شکل ۸). مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش سال و تنش خشکی نیز نشان داد که در همه سطوح آبی میزان این آنزیم در سال اول به‌علت کاهش میزان رطوبت نسبی، کاهش میزان بارندگی و افزایش درجه حرارت هوا بیش‌تر از سال دوم بوده است (شکل ۹). عدم تعادل اجزای مکانسیم‌های دفاعی یکی از دلایل کاهش میزان و عملکرد ضعیف این آنزیم می‌باشد بدین صورت که متابولیسم و مکانسیم دفاعی سلول تحت تأثیر افزایش فرم‌های فعال اکسیژن قرار گرفته و سبب افزایش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شده است (Hassanpour *et al.*, 2015). به‌نظر می‌رسد که در این پژوهش در شرایط تنش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سهم زیادی در مکانسیم دفاعی گیاه ریحان نداشته و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دیگری در شرایط تنش جهت دفاع از گیاه افزایش یافته‌اند.

### ۶.۳. سوپراکسید دیسموتاز

اثر متقابل تنش خشکی × پوتریسین × اپی‌براسینولید در سطح یک درصد و سال × تنش خشکی در سطح پنج درصد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳). میزان این آنتی‌اکسیدان با افزایش تنش خشکی کاهش داشت اما محلول‌پاشی پوتریسین و اپی‌براسینولید سبب افزایش میزان این آنزیم در هر سه سطح تیمار آبی شد. در شرایط ۴۰ و ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر غلظت دو میلی‌مولار پوتریسین و ۰/۵ میکرومولار اپی‌براسینولید و در شرایط ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر بالاترین غلظت هر دو ماده (دو میلی‌مولار پوتریسین و دو میکرومولار اپی‌براسینولید) سبب افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد (شکل ۸). کاربرد هم‌زمان دو میلی‌مولار پوتریسین و ۰/۵ میکرومولار اپی‌براسینولید نسبت به تیمار شاهد در شرایط ۴۰ و ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به‌ترتیب ۵۱/۴۳، ۴/۹ و ۳۳/۱۶ درصد و در شرایط ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک



شکل ۸. اثر برهم کنش تنش خشکی، پوتریسین واپی براسینولید بر میزان سوپراکسید دیسموتاز گیاه ریحان



شکل ۹. اثر برهم کنش تنش خشکی و سال بر میزان سوپراکسید دیسموتاز گیاه ریحان

*et al* (2015) افزایش میزان این آنزیم را تحت تنش خشکی گزارش کردند. نوع گونه گیاهی، مرحله رشد و نمو بافت گیاهی و شرایط محیطی مختلف سبب این نوع از اختلافات می باشد (Casano, 1994).

### ۷.۳. درصد اسانس

اثرات متقابل سال × تنش خشکی × پوتریسین × اپی براسینولید در سطح احتمال یک درصد تأثیری معنی داری بر درصد اسانس گیاه ریحان داشتند (جدول ۳). میانگین تغییرات میزان اسانس بیانگر تأثیر تنش خشکی بر میزان اسانس نسبت به شاهد بوده و محلول پاشی پوتریسین و اپی براسینولید نسبت

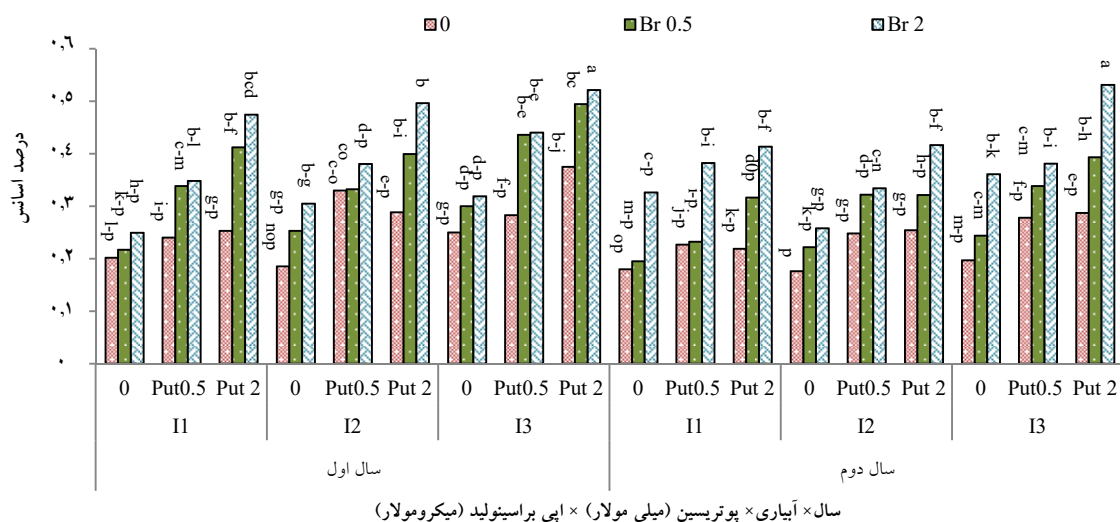
یعنی در واقع گروه های مختلفی از آنزیم های آنتی اکسیدانی فعال می شوند (Chaparzadeh *et al.*, 2004). و در این پژوهش در گیاه ریحان تحت تنش خشکی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نقش دفاعی مهمی نداشته است.

مطالعات زیادی جهت بررسی سیستم های دفاعی ناشی از تنش های محیطی انجام شده و نتایج متفاوتی حاصل شده است. در بعضی از گونه ها فعالیت برخی از آنتی اکسیدان ها کاهش یافته، اما در گونه های دیگر فعالیت همان آنتی اکسیدان ها بیش تر و یا بدون تغییر است. Yong *et al.* (2006) عنوان کردند که میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تنش خشکی کاهش یافته اما Hassanpour

بررسی تأثیر پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی گیاه ریحان تحت شرایط تنش خشکی

ثانویه در سلول افزایش یافته، که این امر سبب افزایش پایداری سلول و میزان اسانس گیاه می‌شود (Saffari et al., 2016). در این آزمایش درصد بالای اسانس در تیمار تنش را شاید بتوان به کاهش سطح برگ و متعاقب آن افزایش تراکم غده‌های ترشح‌کننده اسانس ربط داد (Rezaei Chiyaneh et al., 2012). افزایش درصد اسانس تحت تنش خشکی در گیاه زیره سبز (Bettaieb, 2011) و بابونه آلمانی و کاسنی (Farhoudi et al., 2017) نیز گزارش شده است. در اثر محلول‌پاشی پوتریسین افزایش اسانس می‌تواند به علت نقش پوتریسین بر استحکام غشای سلولی برگ و تنظیم‌کنندگی پوتریسین در ارتباط با واکنش در برابر تنش‌ها و پیری باشد که با استحکام غشاهای سلولی و بازداری از فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیکی از پیری ممانعت می‌شود (El-Lethy et al., 2010). از آنجایی‌که پوتریسین یکی از پلی‌آمین‌های فعال گیاه می‌باشد و بخشی از متابولیسم ترکیب‌های نیتروژنی را شامل شده و با تأمین‌کننده منبع نیتروژن در گیاه موجب افزایش شاخص‌های رشد درصد اسانس گیاه می‌شود (Amin et al., 2011).

به تیمار عدم محلول‌پاشی موجب افزایش میزان اسانس در همه سطوح آبی شد. در هر دو سال آزمایش استفاده از مواد محلول‌پاشی به کار برده‌شده در غلظت‌های بالا (۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید) در همه سطوح آبی سبب افزایش بیش‌تر درصد اسانس ریحان شد که این افزایش در سال اول بیش‌تر از سال دوم بود (شکل ۱۰). بیش‌ترین درصد اسانس (۰/۵۳۱) در تیمار ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر با کاربرد دو میلی‌مولار پوتریسین و دو میکرومولار اپی‌براسینولید در سال دوم آزمایش (۰/۵۳۱ درصد) مشاهده شد. تیمار شاهد ۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر در سال دوم آزمایش کم‌ترین درصد اسانس (۰/۱۷۶) را دارا بود (شکل ۹). غلظت ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید و ۲ میلی‌مولار پوتریسین نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی) در ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر در سال اول به ترتیب ۵۶/۶۹، ۵۷/۶۹ و ۶۲/۹ در سال دوم ۵۶/۴۱، ۵۷/۶۹ و ۶۲/۹ درصد اسانس افزایش یافت (شکل ۱۰). جهت مقابله با صدمات حاصل از تنش خشکی و حفظ پایداری غشای سلولی، سلول شروع به شکست ماکرومولکول‌ها می‌کند و در نتیجه تجمع متابولیت‌های



شکل ۱۰. اثر برهم‌کنش سال تنش خشکی، پوتریسین و اپی‌براسینولید بر درصد اسانس گیاه ریحان

اسانس شد. بیشترین عملکرد اسانس در ترکیب تیماری ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر، ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرو مولار اپی‌براسینولید در سال دوم (۱۹۶/۵۲ کیلوگرم در هکتار) و کم‌ترین میزان در ترکیب تیمار ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر و عدم محلول‌پاشی پوتریسین و اپی‌براسینولید در سال اول (۴۳/۰۱ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد که احتمالاً به علت افزایش میزان رطوبت، بارندگی و کاهش درجه حرارت در سال دوم بوده که سبب افزایش بیش‌تر رشد رویشی و در نهایت عملکرد اسانس بیش‌تر شده است (شکل ۱۰).

در شرایط ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر در سال اول غلظت کم‌تر اپی‌براسینولید و در سال دوم غلظت بیش‌تر اپی‌براسینولید همراه با ۲ میلی‌مولار پوتریسین عملکرد اسانس بیش‌تری تولید شد، به طوری که تحت شرایط ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر، غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۰/۵ میکرومولار اپی‌براسینولید نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی پوتریسین و اپی‌براسینولید) در سال اول ۶۱ درصد و در سال دوم غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید نسبت به شاهد (عدم پوتریسین و اپی‌براسینولید) ۵۷ درصد عملکرد اسانس افزایش یافت (شکل ۱۱).

تأثیر پلی‌آمین‌های اسپرمین، اسپرمیدین و پوتریسین بر گیاه دارویی بادرشبو نشان داد که تحت تأثیر تیمارهای گوناگون پلی‌آمین‌ها به‌ویژه پوتریسین، کیفیت و کمیت اجزای اسانس بهبود یافت (Rahaty et al., 2015). هم‌چنین در گیاه سرخارگل کاربرد براسینواستروئید تحت شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط نرمال آبیاری، درصد اسانس این گیاه را افزایش داد (Oveysi Omran et al., 2020).

### ۳.۸. عملکرد اسانس

عملکرد اسانس تحت تأثیر اثرات برهم‌کنش سال × تنش خشکی × پوتریسین × اپی‌براسینولید در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). در سال اول و دوم آزمایش در شرایط ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر نسبت به ۴۰ و ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر عملکرد اسانس بیش‌تری حاصل شد، اما در همه سطوح آبیاری محلول‌پاشی پوتریسین و اپی‌براسینولید سبب افزایش عملکرد اسانس ریحان شد. غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید در سال اول و دوم در همه سطوح آبیاری سبب افزایش عملکرد اسانس شد به‌استثنای تیمار ۲ میلی‌مولار پوتریسین در سال اول تحت شرایط ۴۰ و ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر که با کاربرد غلظت کم‌تر اپی‌براسینولید سبب افزایش بیش‌تر عملکرد



شکل ۱۱. اثر برهم‌کنش سال، تنش خشکی، پوتریسین و اپی‌براسینولید بر عملکرد اسانس گیاه ریحان



#### ۴. نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، طبق یافته‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش اثر پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید به‌طور جداگانه و نیز به‌طور برهم‌کنش در هر دو سال آزمایش در شرایط آبیاری مطلوب (۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) و تنش خشکی (۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) گیاه ریحان از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، مقدار پرولین و فلاونوئید نقشی مهمی در کاهش اثر تنش خشکی ایفا نمودند. از آنجایی‌که پوتریسین و ۲۴-اپی‌براسینولید مولکول‌های مؤثر در مسیر علامت‌رسانی تنش‌ها محسوب می‌شوند، بنابراین در شرایط تنش خشکی محلول‌پاشی برگ‌های این دو ماده مذکور منجر به القای پاسخ‌های دفاعی گیاه شده (از جمله آنزیم‌های ضد اکسنده) و این پاسخ‌ها سبب افزایش رشد و تحمل گیاه ریحان به تنش خشکی و در نهایت افزایش درصد اسانس در این شرایط شده است. بنابراین در هر دو شرایط تنش خشکی و هم‌چنین شرایط آبی مطلوب (۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر)، غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید جهت افزایش درصد و عملکرد اسانس ریحان از طریق بهبود فعالیت‌های آنزیم‌های ضد اکسنده پیشنهاد می‌شود.

#### ۵. تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که در اجرای این پژوهش همکاری صمیمانه داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### ۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

#### ۷. منابع

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ameri, R., Azizi, M., Tehranifar, A., & Roshan Sarvestani, V. (2015). Effect of Natural Antitranspirant Compounds on Physiological and Biological Properties of Basil (*Ocimum basilicum*) under Water Stress Condition. *Journal of Horticultural Sciences*, 29(1), 55-67. (In Persian).
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., & Smith, M. (1998). Crop evapotranspiration-guidelines for computing crop water requirements-FAO irrigation and drainage paper 56. FAO, Rome, 300, 6541.
- Alcazar, R., Cuevas, J., Patron, C., Altabella, M., & Tiburcio, A. F. (2010). Abscisic acid modulates polyamine metabolism under water stress in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiology*, 128, 448-455.
- Anjum, S.A., Wang, L.C., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L.L., & Zou, C.M. (2011). Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197, 177-185.
- Afsharmohammadian, M., Ghanati, F., Ahmadiani, S., & Sadrzamani, K. (2016). Effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes and soluble sugars content of *Pe-nnyroyal* (*Mentha pulegium* L.). *Nova Biologica Reperta*, 3 (3), 228-237. <https://10.21859/acadpub.nbr.3.3.228>. (In Persian).
- Anwar, A., Yumei, L., Rongrong, D., Longqiang, B., Xianchang, Y., & Yansu, L. (2018). The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: a review *Biological Research*, 51(46), 1-15. <https://10.1186/s40659-018-0195-2>
- Arasteh, F., Moghaddam, M., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2020). The effect of putrescine foliar application on the induction of drought resistance in Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.). *Journal of Cell and Tissue*, 11(3), 204-220. <https://10.52547/JCT.11.3.204>. (In Persian).
- Aria, P. (1997). Description of methods of physical decomposition of soil. Tehran Soil and Water Research Institute Publications. 65.
- Bates, L.S., Waldern, R.P., & Tear, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>

- Bajguz, A., & Hayat, S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses, *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(1), 1-8. <http://10.1016/j.plaphy.2008.10.002>
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Aidi Wannes, W., Kchouk, M.E., & Marzouk, B. (2011). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120, 271-275. <http://10.1016/j.scienta.2008.10.016>
- Bucks, D.A., Nakayama, F.S., & Warrick, A.W. (1982). Principles, Practices, and Potentialities of trickle drip irrigation. In: Hillel, D. (Ed.). *Advances in Irrigation Agronomy Assets Cambridge*, 1, 219-298. <http://10.1016/B978-0-12-024301-3.50013-7>
- Casano, L.M., Martin, M., & Sabater, B. (1994). Sensitivity of superoxide dismutase transcript levels and activities to oxidative stress is lower in mature-senescent than in young barley leaves. *Plant Physiology*, 106. <http://1033-1039.10.1104/pp.106.3.1033>.
- Change, B., & Maehly, A.C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775. [http://10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](http://10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Chaparzadeh, N., Amico, M.L., Nejad, R.K., Izzo, R., & Izzo F.N. (2004). Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 695-701. <http://10.1016/j.plaphy.2004.07.001>
- Chegini, E., Ghorbanpour, M., Hatami, M., & Taghizadeh, M. (2017). Effect of Multi-Walled Carbon Nanotubes on Physiological Traits, Phenolic Contents and Antioxidant Capacity of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand. under Drought Stress. *Journal of Medicinal Plants*, 16 (62), 191-207. (In Persian).
- Dandan, Ch., Qingsong, Sh., Lianghong, Y., Adnan, Y., & Bingsong, Zh. (2019). Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses. *Frontiers in Plant Science*, 9(1945),1-13. <http://10.3389/fpls.2018.01945>
- Dastborhan, S., Zehtab-Salmasi, S., Nasrollahzadeh, S., & Tavassoli, A.R. (2011). Effect of biofertilizers and different amounts of nitrogen on yield of flower and essential oil and nitrogen use efficiency of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(2), 290-305. (In Persian).
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, L.A., & Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxidizedismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. <https://10.1093/jxb/32.1.93>
- Dhriti, K., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The Impact of Drought in Plant Metabolism: How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production, *Applied Sciences*, 10, 5692, 2-19. <https://10.3390/app10165692>
- Ekren, S., Sonmez, ch., Ozcakil, E., Kukul Kurttas, Y., Bayram, E., & Gurgulu, H. (2012). The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agricultural Water Management*, 109, 155-161. <https://10.1016/j.agwat.2012.03.004>
- Esmailpour, B., Fatemi, H., & Moradi, M. (2019). Effects of nitric oxide on some morphophysiological and biochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. *Iranian journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 4(35), 601-616. (In Persian).
- El-Lethy, S., Ayad, H., & Talaat, I. (2010). Physiological effect of some antioxidant on flax plant (*Linum usitatissimum* L.). *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(5), 622-629.
- Fariduddin, Q., Khanam, S., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., & Ahmad, A. (2009). Effect of 28-homobrassinolide on drought stress induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. *Acta Physiology Plant*, 31, 889-897.
- Flores, H.E., Protacio, C.M., & Signs, M. (1989). Primary and secondary metabolism of polyamines in plants. *Plant Nitrogen Metabolism*, 329-393.
- Farhoudi, R. (2017). Evaluation of Drought Stress Effect on Growth, Essential Oil Percentage and Essential Oil Yield of Chamomile (*Matricaria recutita* L. Presov cultivar) and Chicory (*Cichorium intybus* L. local cultivar) in the North of Khuzestan. *Journal of Horticultural Science*, 31(1), 122-130. <https://10.22067/jhorts4.v0i0.46691>. (In Persian).
- Galston, A. W. (1991). On the trail of a new regulatory system in plants. *New Biology*, 3, 450-453.
- Gao, F.Y., Ji, C.G., Lia, Z., Sun, B., Zhanga, L.P., Liu, N., & Wang, Q.M. (2010). Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress, *Scientia Horticulturae*, 126, 103-10.

- Gerami, M., Mohammadian, A., & Akbarpour, V. (2019). The Effect of Putrescine and Salicylic Acid on Physiological Characteristics and Antioxidant in Stevia Rebaudiana Under Salinity Stress. *Journal of Cell Biology*, 11 (29), 40-54. <https://10.29252/jcb.11.29.40>. (In Persian).
- Hassanpour, K., Ahmadi, J., Daneshyan J., & Hatami S. (2015). Changes in chlorophyll, protein and antioxidant enzymes on durum wheat under drought stress. *Journal of Crop Breeding*, 7(15), 76-87. (In Persian).
- Hemmati, KH., Ebadi, A., Khomari, S., & Sedghi, M. (2018). Influence of ascorbic acid and 24 epibrassinolide on physiological characteristics of pot marigold under water-stress condition. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 364-372. (In Persian). <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1483033>
- Iakovos, K., Menexes, G., Georgiou, P., & Dordas, Ch. (2020). Effect of Water Stress on the Physiological Characteristics of Five Basil (*Ocimum basilicum* L.) Cultivars. *agronomy*, 10(7), 1029.1-20. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071029>
- Kabiri, R., Farahbakhsh, H., & Nasibi, F. (2014). Effect of drought stress on physiological and biochemical characteristics of *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(4), 66,600-610. <https://10.22092/ijmapr.2014.9841>. (In Persian).
- Kashefi, B., & Bahri, F. (2019). The effect of drought stress and hexaconazole on physio-morphological characteristics of *Malva sylvestris* L., *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(3), 877-887. <https://10.22077/escs.2019.1591.1360>
- Khair-ul-Bariyah, S., Ahmed, D., & Ikram, M. (2012). *Ocimum basilicum*: a review on phytochemical and pharmacological studies. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 2(2), 78-85. <https://10.15228/2012.v02.i02.p05>
- Khalifelouiy, Z., Abbasifar, A.R., Khadivi, A., & Akramian M. (2020). The effect of proline and 24-epibrassinolide on growth indices and biochemical characteristics of the summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Plant Research*, 32(4), 873-885. (In Persian).
- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stress: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 15, 444(2), 139-58. <https://10.1016/j.abb.2005.10.018>
- Mazarie, A., Mousavi-nik, S.M., Ghanbari, A., & Fahmideh L. (2019). Effects of spraying jasmonic acid on some morpho-physiological traits, antioxidant enzymes activity and essential oil yield of *Salvia officinalis* L. under drought stress. *Iranian journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35(1), 80-97. (In Persian).
- Momeni Monfared, M., Mahmoodi Sourestani, M., Zolfaghari, M., & Malekzadeh, M. (2018). Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of essential oil of some Basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions in Ahvaz weather conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 34(2), 286-297. <https://10.22092/ijmapr.2018.115708.2155>
- Nazarli, H., Ahmadi, A., & Hadian, J. (2015). Putrescine induces drought tolerance and alters the activities of antioxidant enzymes in growing chamomile plants (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 2(46), 227-235. (In Persian).
- Nobahar, A., Mostafavi Rad, M., & Ghazi Pirkouhi, M. (2014). Effects of planting pattern and plant density on Quantitative and qualitative yield in two basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plants. *Journal of Crop Production*, 7(1), 63-77. (In Persian).
- Oveysi Omran, M., Zavareh, M., Sefidkon, F., Abaszadeh, B., Asadi-Sanam, S. (2020). Effects of potassium and brassinosteroid on some morphophysiological characteristics and essential oil yield of *Echinacea purpurea* L. Moench under different regimens of water availability. *Iranian journal of medicinal and aromatic plants*, 36(1), 40-58. (In Persian).
- Parvin, S., Lee, O.R., Sathiyaraj, G., Khorolragchaa, A., Kim, Y.J., & Yang, D.C. (2014). Spermidine alleviates the growth of saline-stressed ginseng seedlings through antioxidative defense system. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 537(1), 70-80. <https://10.1016/j.gene.2013.12.021>
- Rahaty, R., Hakimi, L., & Zare, F. (2015). Effect of polyamines on morphological characteristics, quantity and quality essential oil of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 3(5), 49-58.
- Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Sodi, A.M., & Soldatini, G.F. (2003). Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany*, 54(392), 2529-2540. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg270>
- Rezaei Chiyaneh, E., Zehtab Salmasi, S., Ghassemi Golezani, K., & Delazar, A. (2012). Physiological responses of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) to water limitation. *Journal of Agroecology*, 4(4), 347-355. (In Persian).
- Rezaei, H., Saecidi-Sar, S., Ebadi, M., & Abbaspour, H. (2018). The effect of spraying of methyl jasmonate and 24-epi-brassinolide on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and leaf stomatal traits in black mustard (*Brassica nigra* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, 7 (25), 53-62. (In Persian).
- Siosemardeh, A., Fateh, H., & Badakhshan, h. (2014). Responses of Photosynthesis, Cell Membrane Stability and Antioxidative Enzymes to Drought Stress and Nitrogen Fertilizer in Two Barley (*Hordeum vulgare* L.) Cultivars under Controlled Condition. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 12(2), 34, 215-228. (In Persian).

- Soltanian, B., Rezvani Moghaddam, P., & Asili, J. (2020). Effects of water deficit stress and fertilizer sources on morphological characteristics and phenolic compounds in medicinal plant purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(36), 130-141. (In Persian).
- Saffari, M., Oveysi, M., & Zarghami, R. (2016). Effect of putrescine polyamine on some traits of the herb thyme (*Thymus vulgaris* L.) under water deficit stress. *Agronomic Research In Semi Desert Regions*, 12 (4), 279-289. (In Persian).
- Saglam, A., Saruhan, N., Terzi, R., & Kadioglu, A. (2011). The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 60-68. <https://10.1134/s102144371101016x>
- Simova-Stoilova, L., Demirevska, K., Petrova, T., Tsenov, N., & Feller, U. (2008). Antioxidative protection in wheat varieties under severe recoverable drought at seedling stage. *Plant Soil Environment*, 54, 529-536. <https://17221/427-PSE>
- Trevor, M., Nemanja, N., Vukašinović, D. L., Russinova, E., & Yanhai, Y. (2020). Brassinosteroids: Multidimensional Regulators of Plant Growth, Development, and Stress Responses *Plant Cell*, 32(2), 295-318. <https://10.1105/tpc.19.00335>
- Yong, T., Zongsuo, L., Hongbo, S., & Feng, D. (2006). Effect of water deficits on the activity of antioxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix astragal* at seedling stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 49, 60-65. <https://10.1016/j.colsurfb.2006.02.014>
- Yiu, J., Juang, L.D., Fang, D., Liu, W., & Wu, J. (2009). Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. *Scientia Horticulturae*, 120, 306-14. <https://10.1016/j.scienta.2008.11.020>
- Zali, H., Hasanloo, T., Sofalian, O., Asghari, A., & Zeinalabedini, M. (2016). Drought Stress Effect on Physiological Parameter and Amino Acids Accumulations in Canola. *Journal of Crop Breeding*, 8(18), 191. (In Persian).
- Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., & Xia, X.J. (2010). Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. *Plant Science*, 179(3), 202-208.
- Zhang, R.H., Li, J., Guo, S.R., & Tezuka, T. (2009). Effects of exogenous putrescine on gas-exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of NaCl-stressed cucumber seedlings. *Photosynthesis Research*, 100, 155-162. <https://10.1007/s11120-009-9441-3>