



ارزیابی تأثیر پوتریسین و براسینواستروئید در القای تحمل به خشکی و تغییر فعالیت‌های فیزیولوژیکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

فرشته دارابی^۱، نصرت اله عباسی^{۲*}، محمدجواد زارع^۳

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

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

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

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲۹

چکیده

تنش خشکی یکی از فاکتورهای مهم محیطی در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا است که سبب ایجاد یکسری تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی در گیاهان می‌شود. تنش خشکی موجب تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال در کلروپلاست‌های گیاهی و همچنین سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریب غشای سلولی می‌شود. در این راستا، آزمایشی با هدف بررسی نقش تنظیم‌کننده‌های رشد، پوتریسین و براسینواستروئید بر کنترل تنش اکسیداتیو و تغییرات فیزیولوژیکی در تحمل به کمبود آب در گیاه ریحان به‌صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح (۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی پوتریسین در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی براسینواستروئید در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۲ میکرومولار) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی اجرا گردید. بنا بر نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، میزان کلروفیل a و b، فلاونوئید کل و غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای به‌ترتیب در تیمار کاربرد توأم محلول‌پاشی ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید) در شرایط عدم تنش خشکی ۰/۴۶/۷۴، ۰/۶۴/۶۸، ۰/۴۵/۶۸ و ۱۹/۵ درصد، در تنش متوسط ۰/۶۱/۴، ۰/۳۳/۹، ۰/۳/۶ و ۱۰/۳ درصد و در تنش خشکی شدید ۰/۶۲/۱، ۰/۶۸/۶، ۰/۳۳/۱ و ۱۵/۷ درصد افزایش نشان دادند. سرعت فتوسنتز تحت تنش خشکی کاهش یافت اما تیمار غلظت ۰/۵ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید) در تنش خشکی متوسط و شدید سبب افزایش ۷۶/۵۹ و ۸۳/۳۳ درصدی سرعت فتوسنتز شد. تیمار کاربرد محلول‌پاشی غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۰/۵ میکرومولار براسینواستروئید سبب کاهش میزان نشت یونی تحت همه سطوح تنش خشکی گردید. میزان درصد اسانس در تیمار (غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۰/۵ میکرومولار براسینواستروئید) در تنش خشکی شدید، تنش خشکی متوسط و عدم تنش خشکی به ترتیب ۶۶/۵، ۳۹/۵ و ۵۰ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید) افزایش یافت. در کل، به نظر می‌رسد مصرف غلظت بالای پوتریسین و براسینواستروئید (غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار براسینواستروئید) در شرایط تنش خشکی می‌تواند شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه ریحان را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: درصد اسانس، ریحان، فتوسنتز، فلاونوئید، محلول‌پاشی

مقدمه

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) متعلق به تیره نعناعیان و بومی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آسیا، آفریقا و آمریکای جنوبی است (Panahinia et al., 2016). اسانس این گیاه به‌طور عمده شامل فنیل پروپانوئیدها است

تحقیقات مختلف نشان‌دهنده نقش پلی‌آمین‌ها در کاهش تنش‌های محیطی بر روی گیاهان است. نظری و همکاران (Nazarli et al., 2015) گزارش کردند از آنجایی که پلی-آمین‌ها از جمله مولکول‌های مؤثر در مسیر علامت‌رسانی تنش‌ها به شمار می‌روند، محلول‌پاشی این مواد به القای پاسخ‌های دفاعی گیاه (از جمله آنزیم‌های ضداکسنده) می‌انجامد، به احتمال زیاد این پاسخ‌ها به افزایش تحمل گیاه بآبونه آلمانی به تنش خشکی منجر شده و میزان رشد و تولید زیست‌توده را در این شرایط افزایش داده است.

اسکندری و همکاران (Eskandari et al., 2013) گزارش داد که استفاده از ۲۸- هموبراسینولید در غلظت‌های ۸-۱۰ و ۱۰-۱۰ مولار از طریق کاهش اثر تنش خشکی باعث بهبود و افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد و عملکرد ماده خشک تولیدی در شرایط تنش ملایم و شدید گیاه مرزه بختیاری گردید. با به‌کارگیری یک میلی‌مولار پوتریسین غلظت کلروفیل a، کلروفیل کل، کاروتنوئید و درصد اسانس برگ نعنای فلفلی افزایش یافت (Naajarzadeh et al., 2015). محلول‌پاشی پوتریسین بر روی گیاه بآبونه نشان داد که غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام پوتریسین بیشترین تأثیر مثبت را بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاه بآبونه داشت (Mahgoub et al., 2011).

محلول‌پاشی برگ‌گی پوتریسین روی گیاه آویشن تحت تنش خشکی باعث افزایش میزان قندهای محلول کل، محتوای فنول‌های محلول کل و کل محتوای رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی گردید (Saffari et al., 2016). احمدی موسوی و همکاران (Ahmadi mousavi et al., 2010) گزارش دادند که مقدار کلروفیل b، a، کاروتنوئیدها و محتوای نسبی آب برگ در طی تنش کم‌آبی کاسته شد ولی در گیاهان تیمار شده با ۲۴- پی‌براسینولید افزایش قابل توجهی مشاهده شد. در پژوهش حاضر برای روشن شدن نقش حفاظتی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (پوتریسین و اپی‌براسینواستروئیدها) بر فرآیندهای فیزیولوژیکی افزایش‌دهنده مقاومت به تنش کم‌آبی، به صورت برون‌زا روی گیاه ریحان مورد آزمایش قرار گرفت که این اطلاعات می‌تواند برای بهینه‌سازی تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان سودمند باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۲۸ دقیقه، عرض

که در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، اسهال، سرفه، زگیل و نارسایی‌های کلیوی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gohari et al., 2017). همچنین به عنوان طعم‌دهنده و معطر کننده مواد غذایی و منبعی از ترکیبات معطر و اسانس‌ها شناخته می‌شود که خاصیت ضد انگلی و دفع‌کنندگی حشرات را دارد (Amerei et al., 2014).

گیاهان در طول دوره رشد خود با تنش‌های محیطی متعددی روبه‌رو می‌شوند که سبب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، متابولیکی، بیوشیمیایی و مولکولی متعددی در آن‌ها می‌شود که این امر موجب بازدارندگی شدیدی در رشد گیاه و در نتیجه کاهش محصول می‌شود (Imam and Zavarehi, 2005). پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی متفاوت است و همچنین توانایی گیاهان برای سازش به تنش‌های محیطی به نوع، شدت و مدت تنش، زمان وقوع، مرحله رشد و گونه گیاهی بستگی دارد (Yordanov and Tsoev, 2000). در گیاهان دارویی تولید متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژنتیکی است، ولی عوامل محیطی به‌ویژه شرایط تنش‌زا، مانند خشکی و شوری نقش عمده‌ای در کمیت و کیفیت این ترکیبات دارند (Alishah et al., 2006).

برای کاهش اثرات سوء تنش آبی بر گیاهان، روش‌های فیزیولوژیکی مختلفی به کار می‌روند که در این میان استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد یکی از مناسب‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌ها برای القای تحمل به خشکی در محصولات کشاورزی مورد استفاده می‌باشند (Anjum et al., 2011). پلی‌آمین‌ها شامل اسپرمیدین، اسپرمین و پوتریسین، ترکیب‌های پلی-کاتیونی با وزن مولکولی پایین هستند که به عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش ایفا می‌کنند و در تنظیم برخی از فرآیندهای اساسی سلول مانند همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه، تقسیم سلولی، تنظیم فعالیت آنزیم‌ها، حفظ پایداری غشاها، جاروب کردن رادیکال‌های فعال و تحمل تنش‌های مختلف مشارکت دارند (Gill and Tuteja, 2010). براسینواستروئیدها به عنوان یک گروه جدید از تنظیم‌کننده‌های رشد دارای اثرات زیستی قابل توجه بر گیاهان هستند، براسینواستروئیدها تحمل گیاهان را در محدوده وسیعی از تنش‌های محیطی خشکی، شوری، سرما و گرما افزایش داده و این افزایش عموماً وابسته به تولید و افزایش رونوشت ژن‌های مسئول پاسخ به تنش، برای بالا بردن تحمل به تنش، در درون گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید بوده است (Eskandari et al., 2013).

در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. مشخصات خاک مورد آزمایش، در جدول (۱) و شرایط آب و هوایی محل اجرای آزمایش در جدول (۲) ارائه شده است. واحد آزمایشی در ابعاد ۳×۳ متر ایجاد و در هر واحد آزمایشی پنج ردیف به طول سه متر و به فاصله ۵۰ سانتی‌متر از همدیگر و فاصله بذور در روی ردیف دو سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بذرها در ریحان توده افغانی در تاریخ ۲۰ اردیبهشت برابر نقشه طرح کشت شد.

جغرافیایی ۳۳ درجه و ۳۷ دقیقه، ارتفاع از سطح دریا ۱۱۷۴ متر به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح (۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی پوتریسین در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی براسینواستروئید در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۲ میکرومولار) به صورت فاکتوریل

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1. Physical and Chemical Properties of soil

عمق خاک Soil Depth	C	N%	P	K	Mn	Cu	Zn	EC	pH	
لومی‌رسی Loamy clay	0-30	1.83	0.18	7	590	7.96	1.2	1.08	0.3	7

جدول ۲. آمار هواشناسی در طول مدت اجرای طرح در سال ۹۷-۱۳۹۶

Table 2. Meteorological statistics during the period of implementation of the plan in 2017-2018.

Months of the year 2017-2018	Temperature (°C)	Rainfall (mm)	Relative Humidity (%)
March فروردین	13.2	140	63
April اردیبهشت	19.9	19.9	8
May خرداد	24.4	0	24
June تیر	30	0	19
July مرداد	31.2	0	17
August شهریور	28.6	0	27
September مهر	20.2	0	27

تنش رطوبتی صورت گرفت. همچنین برای جلوگیری از تأثیر نامطلوب نور خورشید محلول‌پاشی به هنگام غروب آفتاب انجام گرفت. محلول‌پاشی با استفاده از تلمبه‌ای دستی که پاشش محلول را به‌طور یکنواخت روی کانوپی (آسمانه) گیاه انجام می‌دهد استفاده شد. بوته‌های شاهد با آب مقطر پاشش شدند.

برای اعمال تیمارهای آبیاری پس از استقرار گیاهچه (۷-۶ برگی) با محاسبه ظرفیت زراعی مزرعه و نقطه‌ی پژمردگی دائم و میزان تبخیر از تشتک تبخیر با جایگزینی اعداد در رابطه‌ی موردنظر (۱) میزان حجم آب موردنیاز برای آبیاری محاسبه گردید (Bucks et al., 1982) همچنین برای تعیین

برای جلوگیری از حرکت جانبی آب، اطراف هر کرت پشته‌هایی به عرض یک متر قرار داده شد. افزون بر این، برای اطمینان بیشتر از عدم حرکت جانبی آب، فاصله بین کرت‌های مربوط به تیمارهای مختلف آبیاری دو متر در نظر گرفته شد. از هیچ علف‌کشی برای کنترل علف‌های هرز در این آزمایش استفاده نشد و برای کنترل آن‌ها وجین دستی صورت گرفت و به علت نبود آفات و بیماری‌ها در کرت‌های آزمایشی از سموم آفت‌کش استفاده نشد. نحوه عمل محلول‌پاشی بدین صورت بود که محلول‌پاشی برگی هورمون‌های پوتریسین و براسینواستروئید (تهیه‌شده از شرکت سیگما) در سه نوبت به فاصله ۷۲ ساعت یک‌بار و نزدیک به یک هفته پس از آغاز

دور آبیاری از میزان تبخیر از تشتک تبخیر و از طریق محاسبه‌ی نیاز آبی گیاه و رابطه‌های (۲، ۳ و ۴) استفاده گردید (Allen et al., 1998). آبیاری با شیلنگ و کنتور صورت گرفت.

دور آبیاری از میزان تبخیر از تشتک تبخیر و از طریق محاسبه‌ی نیاز آبی گیاه و رابطه‌های (۲، ۳ و ۴) استفاده گردید (Allen et al., 1998). آبیاری با شیلنگ و کنتور صورت گرفت.

$$RWC = \frac{(WF-WD)}{(WT-WD)} \times 100 \quad [5]$$

که در آن RWC: محتوای نسبی آب، WF: وزن تر، WD: وزن خشک و WT: وزن اشباع هستند.

$$V_w = \frac{(F_c - PWP) \times BD \times A \times D \times AMD}{E_a} \quad [1]$$

که در آن V_w : حجم آب آبیاری (مترمکعب)، F_c : 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 سانتی‌متر مکعب)، A: مساحت کرت فرعی آزمایش (مترمربع)، D: عمق ریشه (متر)، MAD: حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی (گرم بر سانتی‌مترمکعب)، و E_a : راندمان آب آبیاری هستند.

$$ET_0 = KP \times ETP \quad [2]$$

$$ETC_0 = KC \times ET \quad [3]$$

که در آن ET: تبخیر و تعرق گیاه مرجع، KP: ضریب تشتک تبخیر کلاس A، ETP: میزان تبخیر روزانه از تشتک تبخیر، ETC₀: تبخیر و تعرق محصول و KC: ضریب گیاهی ریحان هستند

$$\text{دور آبیاری} = \frac{(\theta F_c - \theta PWP) \times D \times MAD \times BD}{ETC_0} \quad [4]$$

در این رابطه D: عمق توسعه ریشه (میلی‌متر)، MAD: حد مجاز تخلیه رطوبت برای گیاه ریحان و Pb: وزن مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌مترمربع) هستند.

پس از اعمال تنش، نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله آغاز گلدهی صورت پذیرفت. صفات ارزیابی شده در این آزمایش شامل صفات زیر بودند:

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

برای تعیین محتوای نسبی آب برگ از روش دیازپرز (DiazPerez, 2006) استفاده شد. ابتدا برگ جوان در موقعیت یکسان روی بوته از هر نمونه انتخاب و جدا گردید. بعد از جدا نمودن برگ از گیاه بلافاصله نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (وزن تر) و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر (جهت آبیگری کامل) قرار گرفته و پس از خشک شدن آب سطحی توسط دستمال کاغذی مجدداً توزین گردیدند (وزن اشباع) پس از آن برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه

نشت یونی

جهت اندازه‌گیری نشت یونی از روش فلاینت (Flinet, 1966) استفاده گردید. از هر بوته یک برگ در موقعیت یکسان جدا و سپس توسط پانچر از هر برگ دیسک‌هایی تهیه و بر روی کاغذ صافی واتمن جهت حذف الکترولیت‌هایی که به سطوح آن‌ها چسبیده است قرار داده شد و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس نمونه‌ها داخل لوله‌های درب دار حاوی پنج میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردیدند. سپس هدایت الکتریکی اولیه (EC₁) محلول در تماس با نمونه‌ها توسط EC متر (مدل Jenway 4010) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. جهت پاره شدن سلول‌ها و خروج محتویات آن‌ها به محلول، عمل یخ زدن و ذوب شدن چندین بار تکرار گردید. در نهایت هدایت الکتریکی نهایی (EC₂) قرائت گردید. میزان نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$RWC = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100 \quad [6]$$

محتوای کلروفیل و کارتنوئید

برای سنجش محتوی کلروفیل و کارتنوئیدها از روش لیچنتنالر و ولبورن (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible مدل Cary-50 ساخت شرکت Varian) در طول‌موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت تنظیم دستگاه از استن ۸۰ درصد به‌عنوان شاهد استفاده گردید. غلظت رنگیزه‌های گیاهی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

$$Chl.a = (12.25A663.2 - 2.79A646.8) \quad [7]$$

فلاونوئید کل

از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد (Liu et al., 2009). ۲ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های رقیق شده متانولی (۵:۱) با دو میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم دو درصد داخل لوله آزمایش ترکیب شدند. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ترسیم شکل‌ها در محیط نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ گیاه ریحان به‌طور معنی‌داری ($P < 0.01$) تحت تأثیر برهمکنش سه‌گانه تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ با کاربرد غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین توأم با غلظت ۲ میکرومولار براسینواستروئید تحت شرایط عدم تنش خشکی (۴۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) و کمترین میزان آن در تیمار عدم محلول‌پاشی تحت شرایط تنش شدید خشکی مشاهده شد (شکل ۱). محلول‌پاشی غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۲ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به تیمار عدم کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید (شاهد) در شرایط ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به ترتیب سبب افزایش ۲۳/۲۶، ۲۴/۸۳ و ۱۵/۲۳ درصدی در محتوای نسبی آب برگ گردید (شکل ۱).

کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش خشکی مربوط به انسداد روزنه‌ها و علت انسداد روزنه‌ها را تجمع هورمون آبسزیک اسید بوده، به‌طوری‌که این هورمون در شرایط تنش خشکی در ریشه ساخته شده و در سلول‌های روزنه‌ای تجمع می‌یابد (Liu et al., 2004). رضایی و همکاران (Rezaei et al., 2012)، در نتایج بررسی‌های خود بر گیاه رازیانه نشان دادند که با افزایش سطح تنش خشکی از ۶۰ میلی‌متر به ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر، به‌طور میانگین ۲۷ درصد از میزان محتوای نسبی آب برگ‌ها کاسته می‌شود. محققان دیگر در بررسی‌های خود نیز نتیجه

$$\text{Chl.b} = (21.21\text{A}646.8 - 5.1 \text{A}663.2) \quad [۸]$$

$$\text{Car} = (1000\text{A}470 - 1.8 \text{Chl.a} - 85.02\text{Chl.b}) / 198 \quad [۹]$$

که در این معادلات Chl.a، Chl.b و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گرانتوفیل) است.

تبادلات گازی

به‌منظور اندازه‌گیری میزان فتوسنتز در واحد سطح برگ (میکرومول CO₂ در مترمربع در ثانیه) و غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای (میکرومول CO₂ بر مول) از دستگاه فتوسنتز متر (IRGA4 مدل LCA4) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در بازه زمانی ۱۲ تا ۱۴ ظهر و بلافاصله بعد از اعمال سطوح مختلف آبیاری صورت گرفت. در هر تیمار صفات موردنظر در برگ‌های شاخه اصلی در شش بوته اندازه‌گیری شد و ۴۵ ثانیه بعد از قرار دادن برگ داخل محفظه شیشه‌ای دستگاه اعداد ثبت شد (Siosemardeh, 2004; Fischer et al., 1998).

استخراج اسانس

به‌منظور تعیین مقدار اسانس گیاه ریحان در مرحله گلدهی، برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار برداشت و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک گردید. پس از آسیاب کردن نمونه‌های گیاهی موردنظر، استخراج اسانس توسط دستگاه کلونجر (Celevenger) با روش تقطیر با آب (water distillation) انجام شد. به این منظور، ۵۰ گرم نمونه گیاهی پودر شده به دستگاه کلونجر انتقال داده شد. عمل حرارت دهی نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت صورت پذیرفت. به علت چسبندگی اسانس به دیواره لوله شیشه‌های اسانسگیر، از حلالی به نام دی‌اتیل‌اتر استفاده شده که به‌راحتی اسانس را در خود حل کرده و خود در اثر حرارت تصعید شده و اسانس بر جای می‌ماند. روغن اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم خشک شد و وزن و مقدار اسانس با ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین گردید و با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Dastborhan et al., 2011).

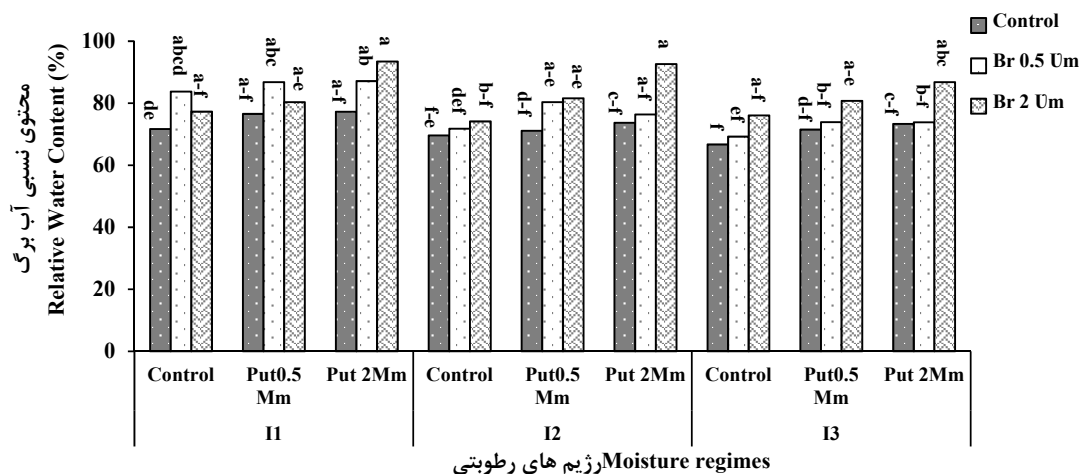
$$\text{اسانس} (\%) =$$

$$100 \times \frac{\text{وزن خشک ماده اولیه (گرم)}}{\text{وزن اسانس (گرم)}}$$

[۱۰]

خواهد بود. خیری و همکاران (Kheiry et al., 2017) دریافتند که تنش خشکی موجب کاهش محتوای آب نسبی برگ‌های نعنای فلفلی شد ولی کاربرد براسینوئید باعث بهبود محتوای نسبی آب برگ در هر دو شرایط تنش و عدم تنش گردید. نتایج مشابهی از تأثیر خشکی در کاهش محتوای نسبی آب برگ برخی گیاهان دارویی و معطر از قبیل مرزه بختیاری و زیره سبز گزارش شده است (Amirinejad et al., 2015; Heidari et al., 2014).

به‌دست‌آمده از این تحقیق را تأیید می‌کنند (Damayanthi et al., 2010; Heidary et al., 2015; Sabettemouri Rubinowska et al., 2010). روبینسکا و همکاران (et al., 2010) عنوان کردند که پلی‌آمین‌ها ممکن است کانال‌های یونی خاصی را تعدیل و نفوذپذیری غشاء به کلسیم افزایش و مقدار این عنصر در سیتوپلاسم بالا رفته که منجر به غیرفعال شدن ورود یک‌سویه پتاسیم در غشاء پلازما گردیده که نتیجه آن تحریک انسداد روزنه و کاهش خروج آب از آن



شکل ۱. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر میزان محتوای نسبی آب برگ ریحان تحت تنش خشکی (Put0: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put1: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Put2: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br0: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br1: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br2: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I1: ۴۰، I2: ۸۰ و I3: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 1. Effect of putrescine and brassinosteroid on relative water content of basil leaf under drought stress (Put0: Non-sprayed putrescine, Put1: Concentration of 0.5 mM Puterisine Spray, Put2: Concentration of 2 mM Puterisine Spray, Br0: Non-sprayed brassinosteroid, Br1: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br2: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I1: 40, I2: 80 and I3: 120 mm evaporation from evaporation pan).

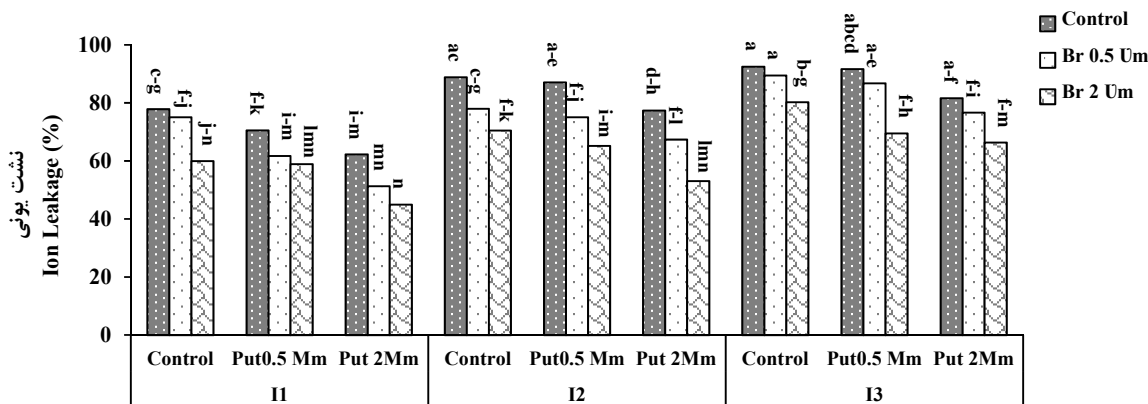
یکی از اولین ساختارهای سلول گیاهی که در شرایط تنش خشکی آسیب می‌بیند لیپیدهای غشای سلول (غشای پلاسمایی) است (Liang et al., 2003)، در نتیجه افزایش برخی ترکیبات فعال اکسیژن از قبیل رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل، غشای سلولی در گیاهان تحت تنش آسیب‌دیده و الکترولیت‌ها به بیرون از سلول تراوش می‌کند و این باعث می‌شود که لایه درون سلول بار منفی پیدا کند (Blume et al., 1981). افزایش ترکیبات فعال اکسیژن به بسیاری از ساختارها و اجزای سلول نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و

نشت یونی

در این پژوهش اثرات سه عامله تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید بر میزان نشت یونی معنی‌دار ($P < 0.01$) گردید (جدول ۳). غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۰/۵ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به تیمار عدم کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید (شاهد) در شرایط عدم تنش خشکی، تنش خشکی متوسط و تنش خشکی شدید به ترتیب سبب کاهش ۵۱/۸۴، ۳۱/۹۴ و ۲۳/۳۵ درصدی نشت یونی گردید (شکل ۲).

کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید تأثیر مثبت و بهبوددهنده‌ای در کاهش میزان نشت مواد محلول از غشاء داشت که کاهش خسارت به غشاء در استفاده از پوتریسین و براسینواستروئید را می‌توان به‌عنوان راهکاری برای افزایش مقاومت به خشکی در گیاهان دانست که ممکن است با تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برای کاهش خسارت تنش اکسیداتیو همراه باشد.

اسیدهای نوکلئیک صدمه می‌زنند و با تغییر ساختار غشاء در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها (Liang et al., 2003) تراوایی غشای سلولی را افزایش می‌دهند که منجر به نشت الکترولیت‌های موجود در داخل سلول به سمت بیرون می‌شود و در نتیجه رشد گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Blume et al., 2011).



Moisture regimes رژیم های رطوبتی

شکل ۲. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر میزان نشت یونی برگ ریحان تحت تنش خشکی (Put₀: عدم محلول پاشی پوتریسین، Put₁: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول پاشی پوتریسین و Put₂: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول پاشی پوتریسین، Br₀: عدم محلول پاشی براسینواستروئید، Br₁: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول پاشی براسینواستروئید و Br₂: غلظت ۲ میکرومولار محلول پاشی براسینواستروئید و I₁: ۴۰، I₂: ۸۰ و I₃: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 2. Effect of putrescine and brassinosteroid on ion leakage content of basil leaf under drought stress (Put₀: Non-sprayed putrescine, Put₁: Concentration of 0.5 mM Puterisine Spray, Put₂: Concentration of 2 mM Puterisine Spray, Br₀: Non-sprayed brassinosteroid, Br₁: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br₂: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I₁: 40, I₂: 80 and I₃: 120 mm evaporation from evaporation pan).

باعث افزایش بیشتر محتوای کلروفیل شد. مطابق شکل ۳ و ۴ اثرات متقابل تنش خشکی، پوتریسین و براسینواستروئید، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در تنش خشکی شدید، محلول پاشی ۲ میلی‌مولار پوتریسین، ۲ میکرومولار براسینواستروئید و تیمار عدم تنش خشکی و عدم محلول پاشی مشاهده شد. غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۲ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به تیمار عدم کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید (شاهد) در شرایط ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به ترتیب سبب ۷۴/۰۶، ۶۱/۴۷، ۶۲/۱۶ درصد افزایش میزان کلروفیل

کاهش نشت یونی در تیمار ۲۴-اپی براسینولید به دلیل حفظ لیپیدهای غشاء از خسارت القاء شده به وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن است و احتمالاً افزایش تولید و فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین‌های دفاعی در حفاظت ساختمان کلروپلاست، دستگاه فتوسنتزی و کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش کم‌آبی نقش دارند (Ozdamir et al., 2004).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میزان کلروفیل a و b گیاه ریحان تحت برهمکنش تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید معنی‌دار (P < 0/01) شد (جدول ۳). محلول پاشی پوتریسین و براسینواستروئید

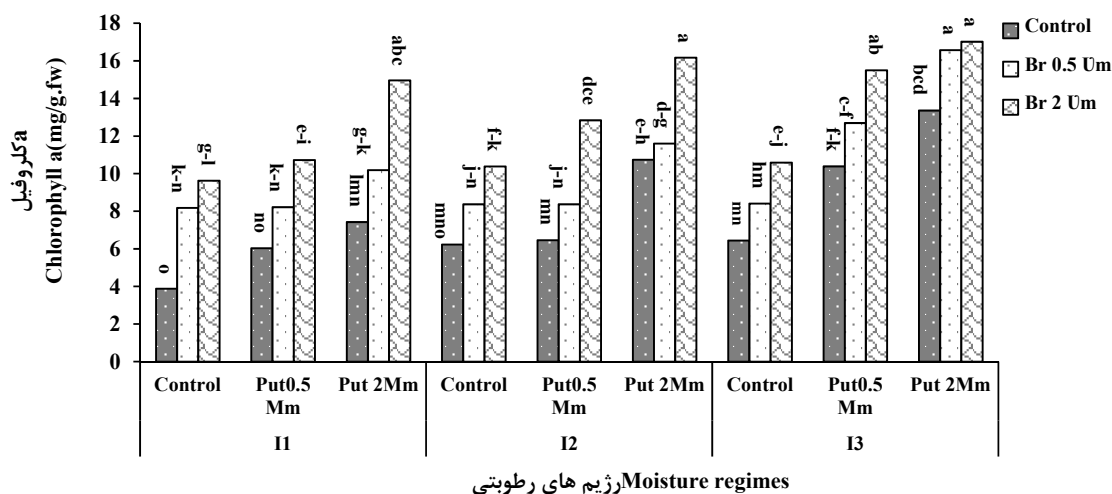
کوهن و همکاران (Cohen et al., 2004) که نشان دادند پلی‌آمین‌ها از تخریب کلروفیل در شرایط تنش‌زا جلوگیری می‌کنند همسو است. این اثرات می‌تواند به اثرات آنتی-اکسیدانی پلی‌آمین‌ها نیز مرتبط باشد به نظر می‌رسد در این پژوهش نیز پوترسین با نقش آنتی‌اکسیدانی خود موجب ثبات غشای تیلاکوئیدی و حفظ پروتئین‌ها و لیپیدهای آن در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی گشت که نتیجه آن حفظ کلروفیل a و کلروفیل b شد. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی بر اثر محلول‌پاشی با براسینواستروئید احتمالاً به دلیل بیان ژن‌های ویژه سنتز آنزیم‌های مؤثر بر تولید کلروفیل باشد (Hayat et al., 2012).

احتمالاً براسینواستروئید به دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های اسمزی موجب دوام جذب آب از خاک به ریشه و در نتیجه حفظ آماس سلولی گردیده و در نتیجه منجر به تحریک رشد و تقسیم سلولی می‌شود زیرا لازمه تقسیم و خصوصاً بزرگ شدن سلول‌ها آماس سلول است. نتایج مشابهی توسط احمدی موسوی و همکاران (Ahmadi Mousavi et al., 2015) گزارش شده است.

a و ۶۴/۰۷، ۳۳/۹۶ و ۶۸/۶۸ درصد افزایش کلروفیل b برگ ریحان شد (شکل ۳ و ۴).

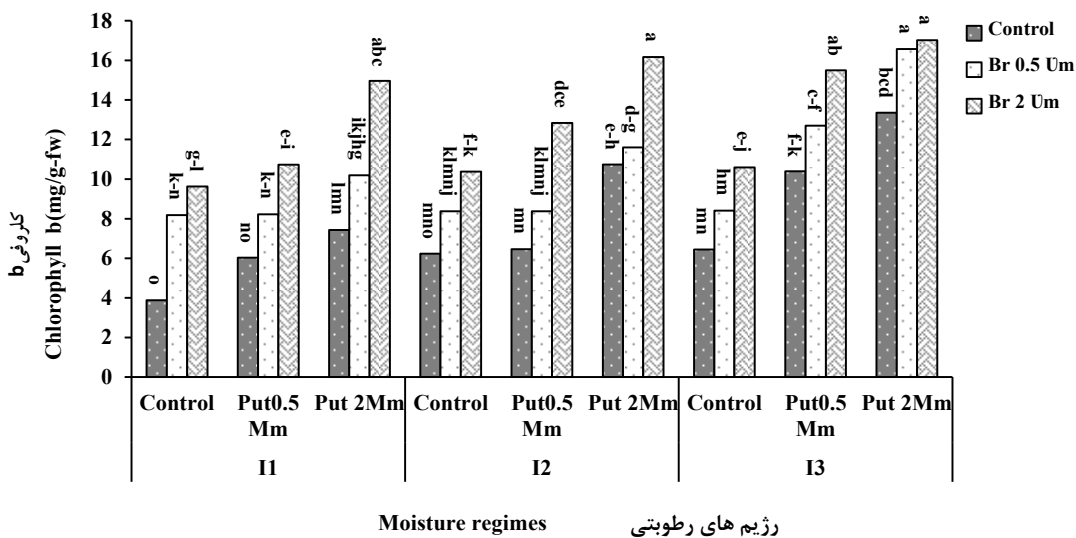
تنش خشکی موجب افزایش میزان کلروفیل a و کلروفیل b شد که با نتایج تحقیقات پژوهشگران دیگر (Baker and Musgrave, 1964; Gratani and Varone, 2004) در تضاد است و با یافته‌های لی و همکاران (Li et al., 2011)، مطابقت دارد. محققان مذکور نیز گزارش کردند در شرایط تنش‌های محیطی محتوای کارتنوئیدها به‌طور معنی‌دار افزایش پیدا می‌کند و نقش محافظتی برای کلروفیل‌ها دارند و از تجزیه کلروفیل‌ها مخصوصاً در تنش شدید خشکی و نوری جلوگیری می‌کنند.

چاپمن و بارتو (Chapman and Barreto, 1997) اظهار داشتند که میزان کلروفیل تحت تأثیر ضخامت برگ گیاه تغییر می‌کند لذا شاید بتوان افزایش کلروفیل در آبیاری کم را، به اختلافات موجود در بین تیمارها از نظر ضخامت برگ مرتبط دانست. تازیز و زایگر (Taiz and Zeiger, 2001) بیان کردند افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی به دلیل افزایش وزن مخصوص برگ است. نتایج این پژوهش با نتایج



شکل ۳. اثر پوترسین و براسینواستروئید بر میزان کلروفیل a برگ ریحان تحت تنش خشکی: Put₀: عدم محلول‌پاشی پوترسین، Put₁: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوترسین و Put₂: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوترسین، Br₀: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br₁: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br₂: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I₁: ۴۰، I₂: ۸۰ و I₃: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 3. Effect of putrescine and brassinosteroid on chlorophyll a content of basil leaf under drought stress (Put₀: Non-sprayed putrescine, Put₁: Concentration of 0.5 mM Puterisine Spray, Put₂: Concentration of 2 mM Puterisine Spray, Br₀: Non-sprayed brassinosteroid, Br₁: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br₂: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I₁: 40, I₂: 80 and I₃: 120 mm evaporation from evaporation pan



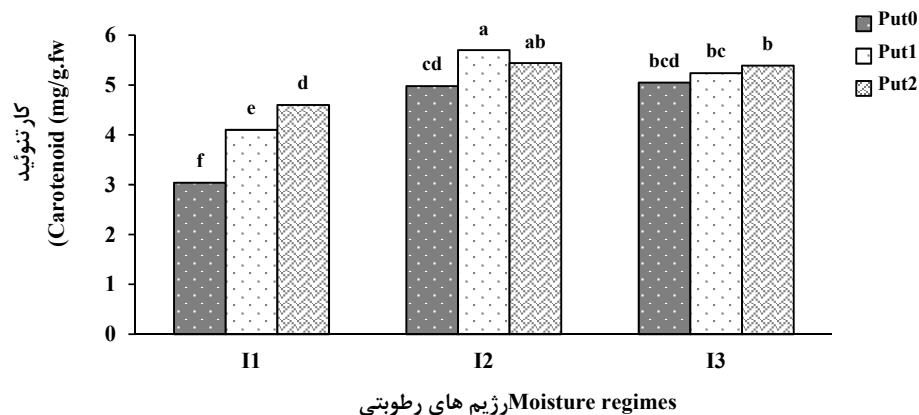
شکل ۴. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر میزان کلروفیل b ریحان تحت تنش خشکی (Put₀: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put₁: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین و Put₂: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br₀: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br₁: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br₂: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I₁: ۴۰، I₂: ۸۰ و I₃: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 4. Effect of putrescine and brassinosteroid on chlorophyll b content of basil under drought stress (Put₀: Non-sprayed putrescine, Put₁: Concentration of 0.5 mM Puterisine Spray, Put₂: Concentration of 2 mM Puterisine Spray, Br₀: Non-sprayed brassinosteroid, Br₁: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br₂: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I₁: 40, I₂: 80 and I₃: 120 mm evaporation from evaporation pan).

به‌وسیله اکسیژن یکتایی اکسید شوند (Ahmadi mosavi et al., 2015). کاروتنوئیدها می‌توانند حالت برانگیخته سه‌تایی حساس‌گر نوری کلروفیل را خاموش کنند. بنابراین به‌طور غیرمستقیم تولید گونه‌های اکسیژن را کاهش می‌دهند و همچنین کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (Alizadeh, 1995). بنابراین با توجه به نقش حفاظتی کاروتنوئیدها نتایج تحقیق حاضر که افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئیدها در طی تنش کم‌آبی و افزایش بیشتر آن طی استفاده از پوتریسین توأم با تیمار کم‌آبی است قابل توجه است. بدین ترتیب گیاه ریحان برای کاهش خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو، مقدار کاروتنوئیدها را افزایش داده تا بتواند تنش کم‌آبی را بهتر تحمل نماید.

کارتنوئید

اثر متقابل تنش خشکی × پوتریسین بر محتوی کارتنوئید برگ ریحان تأثیر معنی‌داری ($P < 0.01$) داشت (جدول ۳). تیمار ۰/۵ میلی‌مولار پوتریسین نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی پوتریسین در شرایط عدم تنش خشکی و تنش متوسط و تنش شدید به ترتیب سبب افزایش ۱۲/۶۳، ۲۵/۸۵ و ۳/۶۲ درصد میزان کاروتنوئید برگ ریحان شد (شکل ۵). برای خنثی کردن اثر سمی گونه‌های اکسیژن فعال ایجادشده در تنش کم‌آبی، یک سیستم آنتی‌اکسیدان با کارایی بالا نیاز است که کاروتنوئیدها می‌توانند سیستم جمع‌کننده نور دستگاه فتوسنتزی را از گزند مولکول‌های اکسیژن یکتایی حفاظت نمایند، همچنین کاروتنوئیدها می‌توانند مستقیماً اکسیژن یکتایی را خاموش و غیرفعال کنند و یا



شکل ۵. اثر پوتریسین بر میزان کارتنوئیدهای گیاه ریحان تحت تنش خشکی (Put0: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put1: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین و Put2: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br0: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br1: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br2: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I1: ۴۰، I2: ۸۰ و I3: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 5. Effect of putrescine on carotenoids content of basil plant under drought stress (Put0: Non-sprayed putrescine, Put1: Concentration of 0.5 mM Puterisine Spray, Put2: Concentration of 2 mM Puterisine Spray, Br0: Non-sprayed brassinosteroid, Br1: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br2: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I1: 40, I2: 80 and I3: 120 mm evaporation from evaporation pan).

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر صفات فیزیولوژیکی گیاه ریحان تحت تنش خشکی

Table 3. Analysis of variance (mean square) of the effect of putrescine and brassinosteroid on physiological traits of basil under drought stress

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	محتوای نسبی آب برگ Relative water content	نشت یونی Ion leakage	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid
Block	بلوک	2	619.56**	54.4 ^{ns}	30.44**	40.53**	0.0034 ^{ns}
Drought stress (D)	تنش خشکی	2	236.84*	2576**	68.36**	52.67**	4.843**
Error a	خطای a	4	107.56 ^{ns}	77.2 ^{ns}	1.015 ^{ns}	2.86*	0.146 ^{ns}
Putrescine (P)	پوتریسین	2	250.5*	64.6 ^{ns}	72.27**	7.31**	0.412*
Brassinosteroid (B)	براسینواستروئید	2	151.3 ^{ns}	484.6**	59.68**	5.71**	0.0313 ^{ns}
D × P	تنش خشکی × پوتریسین	4	113.3 ^{ns}	653.2**	23.32**	8.74**	0.735**
D × B	تنش خشکی × براسینواستروئید	4	54.5 ^{ns}	152.4 ^{ns}	1.49 ^{ns}	3.7**	0.194 ^{ns}
P × B	پوتریسین × براسینواستروئید	4	112.7 ^{ns}	373.0**	26.25**	10.02**	0.192 ^{ns}
D × P × B	تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید	8	186.2**	407.7**	46.34**	8.58**	0.157 ^{ns}
Error b	خطای b	80	64.3	88.7	2.16	0.927	0.099
C.V%	ضریب تغییرات (درصد)		10.31	12.89	14.1	18.89	14.92

Table 3. Continued

جدول ۳. ادامه

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	کاروتنوئید Carotenoid	فلاونوئید کل Total flavonoid	سرعت فتوسنتز Photosynthetic rate	غلظت CO ₂ زیر روزنه‌ای Substomatal CO ₂ concentration	میزان اسانس Essential oil content
Block	بلوک	2	0.0034 ^{ns}	1.11*	0.00001 ^{ns}	170432.76**	0.3126**
Drought stress (D)	تنش خشکی	2	4.843**	4.77**	17.5**	60916.39**	0.3002**
Error a	خطای a	4	0.146 ^{ns}	0.42 ^{ns}	0.081 ^{ns}	871.72 ^{ns}	0.0035 ^{ns}
Putrescine (P)	پوتریسین	2	0.412*	0.12*	1.27**	5952.32**	0.5958**
Brassinosteroid (B)	براسینواستروئید	2	0.0313 ^{ns}	0.22 ^{ns}	4.82**	2753.52*	0.2187**
D × P	تنش خشکی × پوتریسین	4	0.735**	1.4**	1.2**	652.72 ^{ns}	0.3021**
D × B	تنش خشکی × براسینواستروئید	4	0.194 ^{ns}	0.76 ^{ns}	0.8**	639.05 ^{ns}	0.3199**
P × B	پوتریسین × براسینواستروئید	4	0.192 ^{ns}	1.78**	0.244**	963.59 ^{ns}	0.3852**
D × P × B	تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید	8	0.157 ^{ns}	0.74*	2.09**	2115.65*	0.4322**
Error b	خطای b	80	0.099	0.33	0.06	786.3	0.008
C.V%	ضریب تغییرات (درصد)		14.92	13.9	14.01	5.88	22.57

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

Ns: non-significant, * and **: significant at 5% and 1% level of probability, respectively.

فلاونوئید کل

در مطالعه حاضر، افزایش فلاونوئید کل در اثر خشکی ممکن است بیانگر این باشد که گیاه ریحان برای مقابله با اثرات آسیب‌رسان خشکی، به مقادیر زیادی از فلاونوئیدها وابسته است. یکی از دلایل افزایش میزان فلاونوئیدها در شرایط تنش، ایجاد محدودیت در انتقال الکترون فتوسنتزی طی تنش است که سبب ایجاد تغییرات متابولیک در گیاه از جمله منجر به القای سنتز فلاونوئیدها برای تعدیل این وضعیت می‌شود (Rezaei et al., 2014). بسیاری از فلاونوئیدها جزء فعالی از گیاهان دارویی بوده و خواص دارویی دارند، آن‌ها به‌عنوان ترکیب‌های فعال فیزیولوژیکی، عوامل محافظت‌کننده در مقابل استرس و به‌عنوان جذب‌کننده‌ها نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند (Tattini et al., 2004). می‌توان گفت که محرک‌هایی مثل پوتریسین و براسینواستروئید ممکن است ژن‌های جدیدی را فعال کنند که آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را

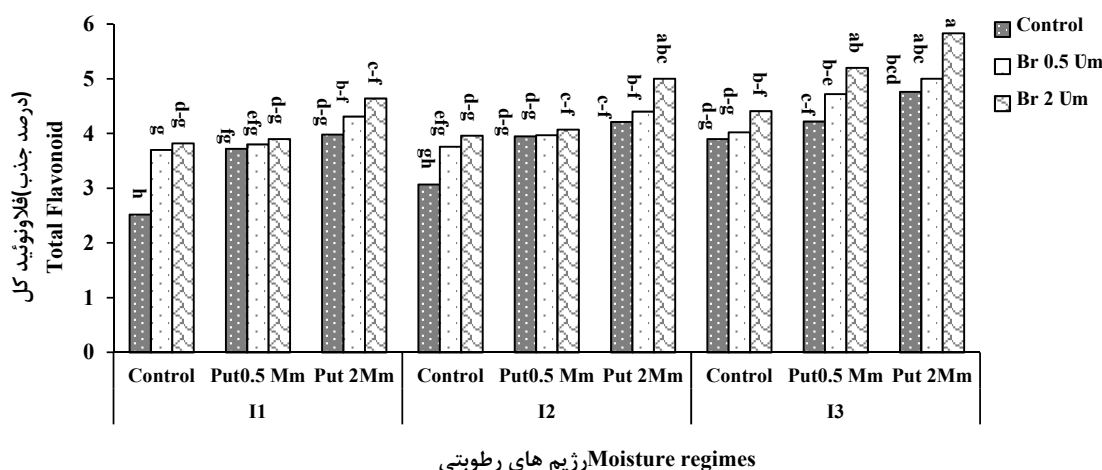
با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) میزان فلاونوئید کل گیاه ریحان تحت تأثیر برهم‌کنش تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید ($P < 0.05$) معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محتوای فلاونوئید کل گیاه ریحان با افزایش سطح خشکی، افزایش معنی‌دار یافته و با کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید در همه شرایط رطوبتی اعمال‌شده میزان فلاونوئید بیشتری حاصل شد و غلظت توأم ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار براسینواستروئید در افزایش میزان فلاونوئید کل مؤثرتر بود (شکل ۶)، به‌طوری‌که کاربرد غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۲ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به تیمار عدم کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید (شاهد) در شرایط عدم تنش خشکی، تنش خشکی متوسط و تنش خشکی شدید به ترتیب ۴۵/۶۸، ۳۸/۶ و ۳۳/۱ درصد بود (شکل ۵).

همراه هر سه سطح پوتریسین تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما نسبت به شرایط تنش خشکی متوسط و شدید به همراه سایر غلظت‌های پوتریسین و براسینواستروئید تفاوت معنی‌داری بر سرعت فتوسنتز داشت و سبب افزایش این صفت گردید (شکل ۶). در شرایط تنش خشکی متوسط و شدید، غلظت توأم ۲ میکرومولار براسینوئید و ۰/۵ میکرومولار پوتریسین نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید) به ترتیب ۷۶/۵۹ و ۸۳/۳۳ درصد سرعت فتوسنتز بیشتری حاصل گردید اما در شرایط عدم تنش خشکی غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۲ میکرومولار براسینواستروئید نسبت به شاهد ۷۹/۴۱ درصد سرعت فتوسنتز بیشتری نشان داد (شکل ۷).

راه‌اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند. کاربرد خارجی براسینواستروئید می‌تواند فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مقابله‌کننده با تنش اکسیداتیو مثل آنتوسیانین، فلاونوئید و ترکیبات فنولی را افزایش دهد (Rezaei et al., 2018).

سرعت فتوسنتز

در این پژوهش عوامل آزمایشی تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید تأثیر معنی‌داری ($P < 0.01$) بر سرعت فتوسنتز داشتند (جدول ۳). در شرایط عدم اعمال تنش خشکی، کاربرد غلظت ۲ میکرومولار براسینواستروئید به



رژیم‌های رطوبتی Moisture regimes

شکل ۶. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر میزان فلاونوئید کل گیاه ریحان تحت تنش خشکی (Put₀: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put₁: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین و Put₂: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br₀: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br₁: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br₂: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I₁: ۴۰، I₂: ۸۰ و I₃: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

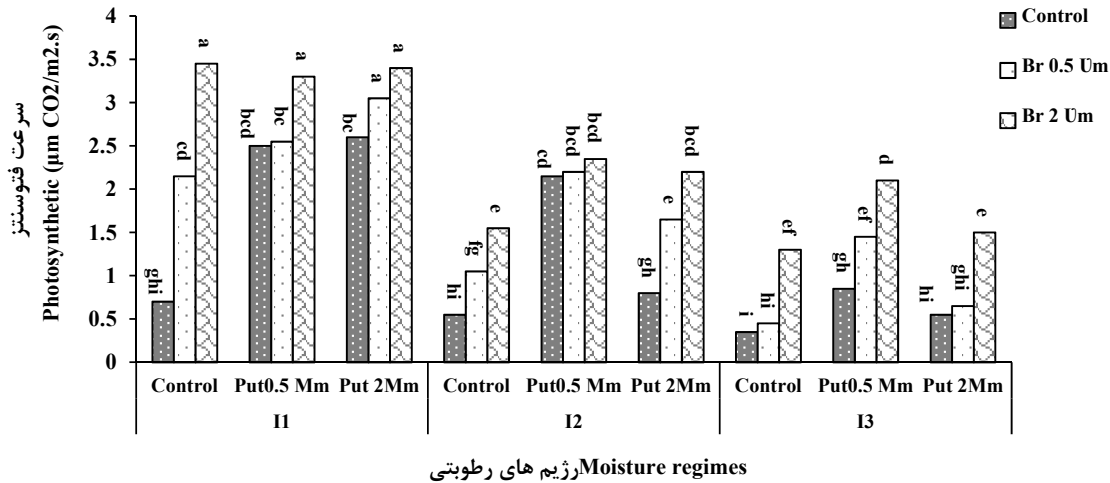
Fig. 6. Effect of putrescine and brassinosteroid on total flavonoid content of basil plant under drought stress (Put₀: Non-sprayed putrescine, Put₁: Concentration of 0.5 mM Putrescine Spray, Put₂: Concentration of 2 mM Putrescine Spray, Br₀: Non-sprayed brassinosteroid, Br₁: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br₂: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I₁: 40, I₂: 80 and I₃: 120 mm evaporation from evaporation pan).

بدین سبب گیاه ریحان نسبت به تیمار تنش خشکی شدید میزان افت فتوسنتز کمتری را داشت؛ اما محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید سبب بهبود میزان فتوسنتز در همه سطوح تنش خشکی گردید (شکل ۹). در مورد علت کاهش میزان فتوسنتز گیاه بر اثر کاهش میزان آب در دسترس آن در شرایط تنش محیطی سه فرضیه عنوان شده است که

نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌دهنده اثرات تنش خشکی بر سرعت فتوسنتز در گیاه ریحان بود به طوری که تنش خشکی و به‌ویژه تنش شدید موجب کاهش سرعت فتوسنتز گردید که با نتایج پژوهش‌های قبلی در گیاه آنیسون مطابقت داشت (Heidari., 2015) و درصد تنش خشکی متوسط اختلال کمتری در جذب دی‌اکسید کربن داشت و

است. پس در نتیجه میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد. افزایش میزان فتوسنتز در ترکیبات به کار برده شده را احتمالاً می‌توان به کاهش از دست‌دهی آب و افزایش میزان رطوبت نسبی برگ و شادابی برگ نسبت داد.

این پژوهش با فرضیه و تحقیقات انجام‌شده توسط لاولر و کورنیک (Cornic and Lawlor, 2002) در یک راستا است، بر اساس این فرضیه آن‌ها گزارش نمودند که کاهش میزان آب در دسترس گیاه موجب کاهش میزان هدایت روزنه‌ای و به سبب آن کاهش میزان دی‌اکسید کربن درون روزنه‌ای شده



شکل ۷. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر سرعت فتوسنتز ریحان تحت تنش خشکی: Put₀: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put₁: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین و Put₂: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br₀: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br₁: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br₂: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I₁: ۴۰، I₂: ۸۰ و I₃: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 7. Effect of putrescine and brassinosteroid on the rate of photosynthesis of basil plant under drought stress (Put₀: Non-sprayed putrescine, Put₁: Concentration of 0.5 mM Putrescine Spray, Put₂: Concentration of 2 mM Putrescine Spray, Br₀: Non-sprayed brassinosteroid, Br₁: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br₂: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I₁: 40, I₂: 80 and I₃: 120 mm evaporation from evaporation pan).

میزان غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای به طور معنی‌داری (P < ۰/۰۵) تحت تأثیر تیمارهای تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید قرار گرفت (جدول ۳). تنش خشکی متوسط و شدید نسبت به شاهد سبب افزایش میزان غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای گردید و محلول‌پاشی غلظت بیشتر پوتریسین (۲ میلی‌مولار) و براسینواستروئید (۲ میکرومولار) نسبت به عدم محلول‌پاشی سبب افزایش غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای شد (شکل ۸).

در تنش متوسط و شدید و محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار پوتریسین بین غلظت‌های مختلف براسینواستروئید تفاوت معنی‌داری ایجاد نشد. بیشترین مقادیر غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای در تیمار تنش شدید، ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار براسینواستروئید و کمترین مقدار در تیمار شاهد

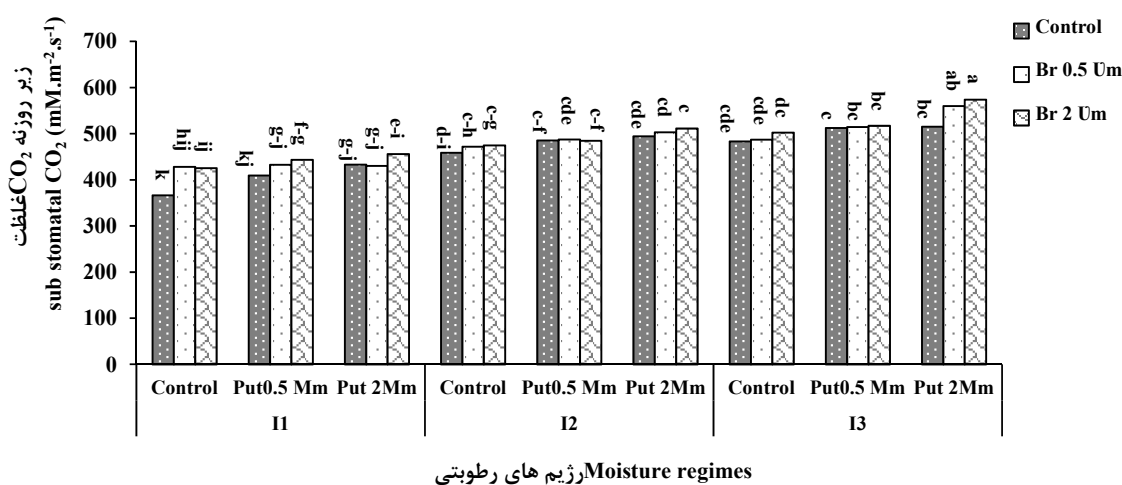
اخیراً برخی مطالعات نشان داده‌اند که سطوح داخلی پلی-آمین‌ها با محلول‌پاشی خارجی افزایش می‌یابد که موجب می‌گردد کارایی فتوسنتز در برابر تنش‌های محیطی افزایش یابد (Baniasad et al., 2015). پلی‌آمین‌ها از طریق تحریک سنتز ATP انرژی سلول را تأمین کرده و ظرفیت فتوسنتزی با افزایش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در شرایط تنش بهبود می‌یابد (Zhang et al., 2009). کاربرد خارجی پوتریسین می‌تواند این تغییرات را با تحریک سازماندهی مجدد سیستم فتوسنتزی جبران کند (Baniasad et al., 2015). گروهی از محققین با بررسی تأثیر ۲۴ اپی‌براسینو-استروئید بر گیاه شمعدانی معطر به این نتیجه رسیدند که رشد و فتوسنتز افزایش یافت (Swamy and Rao, 2009).

غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای

مزوفیل در استفاده از دی‌اکسید کربن است. تجمع دی‌اکسید کربن در برگ در شرایط تنش نشان‌دهنده عدم توانایی گیاه در فرآوری دی‌اکسید کربن علی‌رغم عبور آن از مقاومت روزنه‌ای است (Papi Mousavi et al., 2014)؛ بنابراین، در صورتی که کاهش فتوسنتز با افزایش یا ثبات غلظت دی‌اکسید کربن زیر اتاقک روزنه‌ای همراه باشد، می‌توان گفت که عوامل غیر روزنه‌ای محدودکننده فتوسنتز هستند (Jaleel et al., 2008). براسینواستروئیدها با افزایش غلظت CO_2 درونی کارایی فتوسنتز و تثبیت کربن را افزایش می‌دهند (Hajbagheri, 2018).

(عدم تنش خشکی و عدم محلول‌پاشی) به دست آمد به طوری که غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۲ میکرو-مولار براسینواستروئید نسبت به تیمار عدم کاربرد پوتریسین و براسینواستروئید (شاهد) در شرایط عدم تنش خشکی، تنش خشکی متوسط و تنش خشکی شدید به ترتیب سبب ۱۹/۵، ۱۰/۳ و ۱۵/۷ درصد افزایش غلظت CO_2 زیر روزنه‌ای گردید (شکل ۸).

میزان کمتر فتوسنتز و فرآوری دی‌اکسید کربن در حضور مقادیر بالای دی‌اکسید کربن اتاقک زیر روزنه‌ای به مفهوم پایین بودن میزان هدایت مزوفیلی و عدم توانایی سلول‌های



شکل ۸. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر غلظت CO_2 زیر روزنه‌ای ریحان تحت تنش خشکی (Put0: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put1: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین و Put2: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br0: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br1: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br2: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I1: ۴۰، I2: ۸۰ و I3: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 8. Effect of putrescine and brassinosteroid on sub stomatal CO_2 content of basil under drought stress (Put0: Non-sprayed putrescine, Put1: Concentration of 0.5 mM Putrescine Spray, Put2: Concentration of 2 mM Putrescine Spray, Br0: Non-sprayed brassinosteroid, Br1: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br2: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I1: 40, I2: 80 and I3: 120 mm evaporation from evaporation pan).

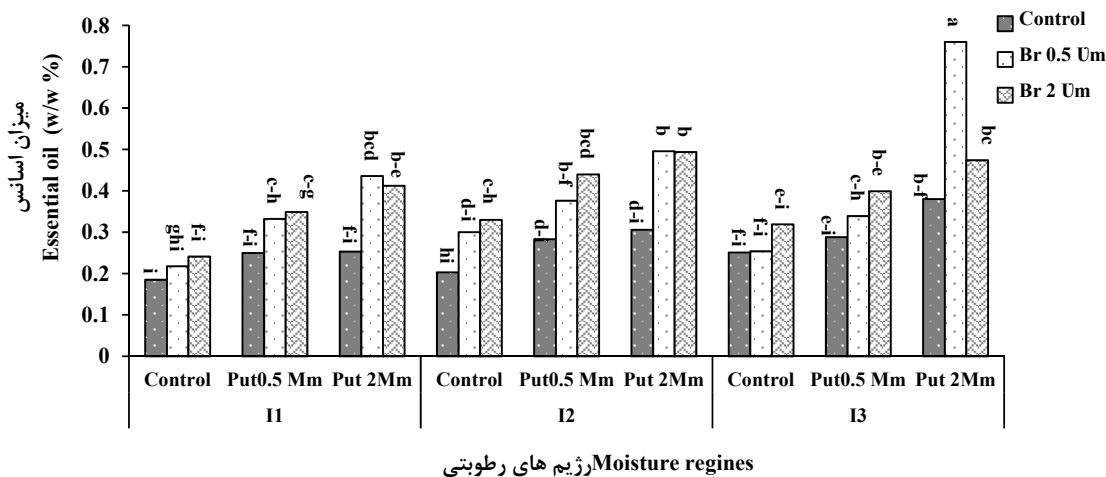
میزان اسانس نشان داد که تیمار تنش خشکی متوسط در همه سطوح محلول‌پاشی نسبت به سایر تیمارهای تنش خشکی دارای بیشترین میزان اسانس بود (شکل ۹). در هر سه شرایط آبیاری، محلول‌پاشی براسینوئید در غلظت کم (۰/۵ میکرومولار) میزان اسانس بیشتری حاصل گردید به طوری که میانگین میزان اسانس گیاه ریحان در تیمار محلول‌پاشی غلظت کمتر براسینواستروئید (۰/۵ میکرومولار) همراه با غلظت بیشتر پوتریسین (۲ میلی‌مولار) در تنش خشکی شدید، متوسط و عدم تنش خشکی به ترتیب موجب

میزان اسانس

اثرات متقابل پوتریسین × تنش خشکی و پوتریسین × براسینواستروئید بر میزان اسانس گیاه ریحان تأثیر معنی‌داری ($P < 0.01$) داشت (جدول ۳). میانگین تغییرات میزان اسانس بیانگر تأثیر تنش خشکی بر میزان اسانس نسبت به تیمار عدم تنش خشکی بوده به طوری که محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی موجب افزایش میزان اسانس گردید. نتایج مقایسه میانگین اثرات برهمکنش تنش خشکی × پوتریسین × براسینواستروئید بر

پوتریسین بر استحکام غشای سلولی برگ و همچنین بازداری از فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیکی جهت جلوگیری از پیری گیاه عنوان شده است (El-Lethy et al., 2010). تأثیر آنتی-اکسیدانتی پلی‌آمین‌ها و مستحکم نمودن غشاء در ارتباط با یکسری بارهای مثبت (گروه‌های آمینی) در ساختار مولکول است (Izadi and Tadayan, 2016). تنش ملایم موجب افزایش اسانس در گیاه بادرشویه شد و با افزایش شدت تنش میزان اسانس کاهش یافت (Rahbarian and Salehi, 2014). چارلز و سیمون (Charles and Simon, 1990) گزارش نمودند که در دو گیاه ریحان و نعناع بالا بودن تراکم غده‌های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ ناشی از تنش، باعث تجمع بیشتر اسانس می‌شود. در این آزمایش نیز شاید به توان درصد بالای اسانس در تیمار تنش متوسط را (سطح دوم آبیاری) به کاهش سطح برگ و متعاقب آن افزایش تراکم غده‌های ترشح‌کننده اسانس مربوط دانست. از آنجایی که گیاه ریحان بیشترین میزان اسانس خود را در مرحله گلدهی کامل دارا است می‌توان کاهش میزان اسانس در سطوح بالای تنش را به رشد ضعیف رویشی و کاهش گلدهی گیاهان نسبت داد.

افزایش ۶۶/۵ و ۳۹/۵ و ۵۰ درصدی میزان اسانس نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی پوتریسین و براسینواستروئید) شد (شکل ۹). بخش عمده اسانس‌ها ترکیبات ترپنوئیدی هستند که نیتروژن پیش ماده این ترکیب‌هاست (Esmailzadeh Bahabadi et al., 2013)، به نظر می‌رسد که افزایش چشمگیر میزان اسانس در مقایسه با تیمار شاهد به دلیل جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن بوده است. تنش خشکی میزان فتوسنتز را در گیاه محدود ساخته و با تغییر در میزان جذب عناصر غذایی از خاک، آمینواسیدها را دچار نوسان کرده و با کاهش فعالیت چرخه‌های مربوط به تولید متابولیت‌های ثانویه (اسانس) سبب مقابله با تنش خشکی و باعث افزایش بازده اسانس می‌گردد (Baniasadi et al., 2015). به دلیل پیش ماده مشترک برای ساخت پلی‌آمین‌ها و اتیلن، بین پوتریسین و اتیلن بر سر پیش ماده SAM رقابت به وجود آمده، بنابراین اثرات فیزیولوژیک اتیلن در گیاهان با تیمار پلی‌آمین‌ها حالت آنتاگونیسمی داشته و ساخت یکی، نقش بازدارندگی از ساخت دیگری را خواهد داشت (Saffari et al., 2016). محلول‌پاشی پوتریسین در غلظت بالا میزان اسانس گیاه ریحان را افزایش داد که این موضوع به دلیل تأثیر



شکل ۹. اثر پوتریسین و براسینواستروئید بر میزان اسانس ریحان تحت تنش خشکی (Put0: عدم محلول‌پاشی پوتریسین، Put1: غلظت ۰/۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Put2: غلظت ۲ میلی‌مولار محلول‌پاشی پوتریسین، Br0: عدم محلول‌پاشی براسینواستروئید، Br1: غلظت ۰/۵ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و Br2: غلظت ۲ میکرومولار محلول‌پاشی براسینواستروئید و I1: ۴۰، I2: ۸۰ و I3: ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر).

Fig. 9. Effect of putrescine and brassinosteroid on essential oil content of basil under drought stress (Put0: Non-sprayed putrescine, Put1: Concentration of 0.5 mM Puterisine Spray, Put2: Concentration of 2 mM Puterisine Spray, Br0: Non-sprayed brassinosteroid, Br1: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, Br2: Concentration of 0.5 mM brassinosteroid Spray, I1: 40, I2: 80 and I3: 120 mm evaporation from evaporation pan).

نتیجه‌گیری نهایی

از آنجایی که پلی‌آمین‌ها و براسینواستروئیدها از جمله مولکول‌های مؤثر در مسیر علامت‌رسانی تنش‌ها به شمار می‌روند، محلول‌پاشی این مواد به القای پاسخ‌های دفاعی می‌انجامد. به احتمال زیاد این پاسخ‌ها به افزایش تحمل گیاه ریحان به تنش خشکی منجر شده و فعالیت‌های فیزیولوژی را در این شرایط بهبود بخشیده است. این مشاهدات و نتایج نشان می‌دهد که هورمون‌های پوتریسین و براسینواستروئید می‌توانند بر تحمل گیاه ریحان در مقابل خشکی بیفزایند و در مدیریت بهتر آب در گیاه ریحان نقش داشته باشند. با توجه به بحران شدید کم‌آبی در کشور و تغییرات آب و هوایی در کره زمین، به‌کارگیری هورمون پوتریسین و براسینواستروئید می‌تواند از نظر اقتصادی، کشاورزی و زیست‌محیطی برای افزایش تحمل به تنش خشکی در گیاه ریحان توجیه داشته باشد.

در این تحقیق مشاهده شد که محلول‌پاشی هورمون‌های پوتریسین و براسینواستروئید بر گیاه ریحان منجر به تغییرات معنی‌داری در همه صفات مورد بررسی نسبت به نمونه شاهد شدند که این حاکی از اثربخشی این ترکیبات است. کاربرد توأم بالاترین غلظت پوتریسین و براسینواستروئید، تأثیر بارزی بر صفات فیزیولوژیکی داشت و باعث افزایش صفاتی مانند، کلروفیل a، کلروفیل b، سرعت فتوسنتز و فلاونوئید کل شد که غلظت ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۲ میکرومولار براسینواستروئید برای بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی و کاربرد توأم ۲ میلی‌مولار پوتریسین و ۰/۵ میکرومولار جهت افزایش میزان اسانس گیاه ریحان پیشنهاد می‌شود.

منابع

- Ahmadi Mousavi, E., Kalantari, M., Jafari, R., Hasibi, N., Mahdavian, K., 2015. International Center for Science, High technology and Environmental Science, Kerman, I.R. of IRAN. Study of the effects of 24 epibrassinolide and water stress on some physiological parameters in canola (*Brassica napus* L.) seedling. Biological Science Promotion. 2, 275-286.
- Alishah, H.M., Heidari, R., Hassani, A., Dizaji, A.A., 2006. Effect of water stress on some morphological and biochemical characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum*). Biological Sciences. 6, 763-767.
- Alizadeh, A., CramerPaul, J., 1374. The relationship between soil and plant water. Ferdowsi University of Mashhad Publication. 744 Pp. [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.
- Amirinejad, M., Akbari, G., Baghizadeh, A., allahdadi, I., Shahbazi, M., Naimi, M., 2015. Effects of drought stress and foliar application of zinc and iron on some biochemical parameters of cumin, Journal of Crops Improvement. 17, 855-866. [In Persian with English Summary].
- Anjum, N.A., Sofu, A., Scopa, A., Roychoudhury, A., Gill, S.S., Iqbal, M., 2014. Lipids and proteins—major targets of oxidative modification sin a biotic stressed plants. Environmental Science and Pollution Research. 121-135.
- Baker, D.N., Musgrave, R.B., 1964. The effects of low level moisture stresses on the rate of apparent photosynthesis in corn. Crop Science. 4, 249-253.
- Baniasadi, F., Saffari, R., Maghsudi, A., 2015. Effect of putrescine and salinity on morphological and biochemical traits and pigment content of marigold plant (*Calendula officinalis* L.). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture Soilless Culture Research Center. 6, 125-134. [In Persian with English Summary].
- Blum, A., 2011. Drought resistance—is it really a complex trait? Functional Plant Biology. 38, 753–757.
- 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.
- Charles, D.J., Simon, J.E., 1990. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry. 29, 2837-2840.

- Cornic, G., 2002. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science*. 5, 187-188.
- Damayanthi, M.M.N., Mohtti, A.J., Nissanka, S.P., 2010. Comparison of tolerant ability of mature field grown tea (*Camellia sinensis* L.) cultivars exposed to a drought stress in Passara Area. *Tropical Agriculture Research*. 22, 66-75.
- 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, 290-305. [In Persian with English Summary].
- Diaz-Perez, J.C., Shackel, K.A., Sutter, E.G., 2006. Relative water content. *Annals of Botany*. 97, 85-96.
- 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.
- Eskandari, M., 2013. Changes in growth parameters and essential oil content of *Satureja bachtiarica bunge* under the effects of 28-Homobrassinolid and drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 29, 176-186. [In Persian with English Summary].
- Esmailzadeh Bahabadi, S., Sharifi, M., 2013. Increasing the production of plant secondary metabolites using biotic elicitors, *Journal of Cell and Tissue*. 4, 119-128. [In Persian with English Summary].
- Fischer, R.A., Rees, D., Sayre, K.D., Lu, Z.M., Candon, A.G., Saavedra, A.L., 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science*. 38, 1467-1475.
- Flinet, H.I., Boyce, B.R., Beatti, D.J., 1966. Index of injury drought a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method. *Canadian Journal of Plant Science*. 47, 229-230.
- Gill, S.S., Tteja, N., 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling Behavior*. 5, 26-33.
- Gohari, Gh., Nepour Aghdam, M.B., Dadpour, M.R., Shairde, M., 2017. The effect of different levels of zinc spraying on growth parameters and essential oil yield of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*. 4 (15), 15-32. [In Persian with English Summary].
- Gratani, L., Varone, L., 2004. Leaf keytraits of *Erica arborea* L., *Erica multiflora* L. and *Rosmarinus officinalis* L. occurring in the Mediterranean anmaquis. *Flora*. 199, 58-69.
- Hajbagheri, S., Abbaspour, H., Enteshari, S., Iranbakhsh, A., 2018. Study effect of mycorrhiza *glomus mosseae* and brassinosteroid the mechanism of photosynthesis of anise (*Pimpinella anisum* L.) under cadmium stress, *Developmental Biology*. 10 (3), 55-71. [In Persian with English Summary].
- Hayat, SH., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Shafi Wani, A., Pichtel, J., Aqil Ahmad, A., 2012. Role of proline under changing environments. *Plant and Behavior*. 7, 1456-1466.
- Heidari, N., 2015. Effects of drought stress on photosynthesis, its parameters and relative water content of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Iranian Journal of Plant Researches*. 27 (5), 829-839. [In Persian with English Summary].
- Heidary, N., PoorYousefi, M., Tavakoli, A., 2014. Effects of drought stress on photosynthesis, its parameters and relative water content of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Journal of Plant Research*. *Iranian Journal of Biology*. 27 (5), 829-839. [In Persian with English Summary].
- Imam, Y., Zavarehi, M., 2005. Drought tolerance in higher plants (genetically, physiological and molecular biological Analysis). Academic Publishing Center of Tehran, Iran. 186. [In Persian].
- Izadi, Z., Tadayon, M., 2016. Effect of salicylic acid and spermine on yield and yield components of castor bean (*Ricinus communis* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 8, 159-167. [In Persian with English Summary].
- Jaleel, C.A., Sankar, B., Sridharan, R., Panneerselvam, R., 2008. Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology*. 32, 79-83.
- Kheiry, A., Tori, H., Mortazavi, N., 2017. Effects of drought stress and jasmonic acid elicitors on

- morphological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 33, 268-280. [In Persian with English Summary].
- Li, K.R., Feng, C.H., 2011. Effects of brassinolide on drought resistance of xanthoceras sorbifolia seedlings under water stress. Acta Physiologica Plantarum. 33, 1293-1300.
- Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W., Ding, R., 2003. Exogenous silicone (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Plant Physiology. 160, 1157-1164.
- Lichtenthaler, H.K., 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.
- Liu, F., Jensen, C.R., Andersen, M.N., 2004. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. Field Crops Research. 86 (1), 1-13.
- Liu, W., Yu-Jie, F., Yuan-Gang, Z., Mei-Hong, T., Nan, u., Xiao-Lei, L., Zhang, S., 2009. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw and its antioxidant activity. Food Chemistry. 114, 334-339.
- Mahgoub, M.H., Abd El Aziz, N.G., Mazhar, A.M.A., 2011. Response of dahlia pinnata L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science. 10, 769-775.
- Mizanzadeh, H., Imam, Y., 2010. Investigation of indices of leaf area, height, photosynthetic rate, stomata conductance of four species of wheat under the drought tension. Ecophysiology of Agricultural Plants. 2, 111-121. [In Persian with English Summary].
- 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. 46, 227-235. [In Persian with English Summary].
- Ozdamir, F., Bor, M., Demiral, T., Turkan, I., 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidant system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. Plant Growth Regulation. 42, 203-211.
- Papi Mousavi, E., Arzani, M., Saeidi. 2014. Evolution photosynthetic parameters in canola and their relationships with leaf area index under field conditions. Journal of Plant Process and Function Iranin Society of Plant Physiology. 3 (8), 47-56. [In Persian with English Summary].
- Rahbarian, P., Salehi Sardoei, A., 2014. Effect of drought stress and manure on dray herb yield and essential oil of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) in Jiroft area. International Journal of Bioscience. 4, 212-217. [In Persian].
- Rezaei Chyanh, A., Zehtab, S., Ghasemi Golezani, K., Delazar, A., 2012. Physiological reaction fennel *Foeniculum (vulgar* L.) to water limitation. Journal of Agricultural Ecology. 4, 347-355. [In Persian with English Summary].
- Rezaei, H., Saedi-Sar, S., Ebadi, M., Abbaspoor, H., 2018. Effect of methyl jasmonate and 24-epi-brassinosteroids foliar application on protein, sugars, anthocyanin, phenol and flavonoid content of black mustard (*Brassica nigra* L.) Under salinity conditions. 9 (4), 1-5. [In Persian with English Summary].
- Rezaei, S., Mohammadian, A., Bakhshi, D., 2014. An investigation on some medicinal compounds and PAL activity in two olive cultivars under cold stress, Iranian Journal of Plant Biology. 6, 1-16. [In Persian with English Summary].
- Rubinowska, K., Pogroszewska, E., Michalek, W., 2012. The effect of polyamines on physiological parameters of post-harvest quality of cut stems of Rosa 'Red Berlin'. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus. 11, 81-93.
- Sabet Teimouri, M., Kafi, M., Avarseji, Z., Orooji, K., 2010. Effect of drought stress, corm size and corm tunic on morphoecophysiological characteristics of saffron (*Crocus sativus* L.) in greenhouse conditions. Journal of Agroecology. 2, 323-334. [In Persian with English Summary].

- 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 Reaserch in Semi Desert Regions. 12(4), 279-289. [In Persian with English Summary].
- Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., Ebrahimzadeh, H., 2004. Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. Iranian Journal of Agriculture Science. 35, 93-106. [In Persian with English Summary].
- Swamy, K.N., Seeta Ram Rao, S., 2009. Effect of 24-epibrassinolide on growth, photosynthesis, and essential oil content of (*Pelargonium graveolens* L.) herit. Russian Journal of Plant Physiology. 52, 612-620.
- Taiz, L., Zaygar, E., 1998. Plant physiology. Jahad Publication, University of Mashhad. 365.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D., Agati, G., 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. New Phytologist, 163, 547-561.
- Yordanov, V., Soev, T., 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica. 38, 171-186.
- 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.



Original article

Evaluation of the effect of putrescine and brassinosteroid on induction of drought tolerance and physiological changes in basil plant (*Ocimum basilicum* L.)

F. Darabi¹, N.A. Abbasi^{2*}, M.J. Zarea³

1. Ph.D. Student of Plant 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 4 May 2019; Accepted 19 June 2019

Abstract

Drought stress is one of the important environmental factors in arid and semi-arid regions of the world that causes a number of physiological and metabolic changes in plants. Drought stress causes the formation of reactive oxygen species in plant chloroplasts and also causes peroxidation of membrane lipids and destruction of cell membranes. In this regard, an experiment aimed at investigating the role of growth regulators, putrescine and brassinosteroids on the control of oxidative stress and physiological changes in water deficiency tolerance in basil in the form of factorial split-plot in a randomized complete block design with three replications in The research farm of the Faculty of Agriculture of Ilam University was implemented during 2017-2018 crop season. Experimental treatments included drought stress at three levels (40, 80 and 120 mm evaporation from Class A evaporation pan) as the main agent and putrescine foliar application at three levels (zero, 0.5 and 2 mM) and solution. Brassinosteroid spraying was performed at three levels (zero, 0.5 and 2 μ M) factorially in subplots. According to the results obtained in this study, the amount of chlorophyll a and b, total flavonoids and CO₂ concentration under the stomata in the treatment of application of 2 mM foliar application of putrescine and 2 μ M brassinosteroid compared to the control treatment (no foliar application) and brassinosteroids in the conditions of non-drought stress 74.06, 64.07, 45.68 and 19.5%, in moderate stress 61.4, 33.9, 3.6 and 10.3% and in severe drought stress 162.68, 68.6, 33.1 and 15.7% showed an increase. The rate of photosynthesis decreased under drought stress, but the treatment of 0.5 mM putrescine and 2 μ M brassinosteroid compared to the control treatment (lack of foliar application of putrescine and brassinosteroid) in moderate and severe drought stress increased by 76.59 and 83.33%, respectively. Photosynthesis rate. Application of foliar application of 2 mM putrescine and 0.5 μ M brassinosteroid reduced ion leakage under all levels of drought stress. The percentage of essential oil in the treatment (concentration of 2 mM putrescine and 0.5 μ M brassinosteroid) in severe drought stress, moderate drought stress and lack of drought stress, respectively, 66.5, 39.5 and 50% compared to the control treatment (no solution) spraying of putrescine and brassinosteroids was increased. In general, it seems that consumption of high concentrations of putrescine and brassinosteroids (2 mM putrescine and 2 μ M brassinosteroids) in drought stress conditions can improve the physiological parameters of basil.

Keywords: Basil, Essential oil, Flavonoids, Photosynthesis, Spraying.

*Correspondent author: Nosratollah Abbasi; E-Mail: abbasinostat@gmail.com.