مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۶ ، شماره ۳. پاییز ۱۴۰۳

مجله پژوهش‌های به زراعی

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، محتوای پرولین و عملکرد اسانس ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تاثیر کاربرد برگی اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی

ذبیح اله رستمی[1]، سعید سیف زاده [1*]، ناصر شهسواری[2*]

۱- گروه زراعت واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران

۲-گروه تولیدات گیاهی واحد حاجی آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، جاجی آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۳

چکیده

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از گیاهان خانواده نعنائیان، دارای مصارف تازه خوری به‌صورت سبز و مصارف دارویی متعددی دارد. آب یکی از مهم‌ترین عوامل تولید گیاهان است و محدودیت آن در کشور ایران و به ویژه در سال‌های اخیر عمده-ترین عامل کاهنده میزان محصول در گیاهان می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که اسید سالیسیلیک موجب ایجاد مقاومت گیاهان نسبت به محدودیت آب می‌شود. بنابراین، به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و عملکرد اسانس گیاه ریحان تحت تأثیر تنش خشکی، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه ای خصوصی واقع در منطقه ماهدشت شهرستان کرج در سال‌های زراعی ۹۵-۱۳۹۴ و ۹۶-۱۳۹۵ اجرا شد. آبیاری در ۴ سطح، I1: ۱۰۰ درصد حجم آب مورد نیاز، I2: ۸۰ درصد حجم آب مورد نیاز، I3: ۶۰ درصد حجم آب مورد نیاز و I4: ۴۰ درصد حجم آب مورد نیاز در کرت‌های اصلی و اسید سالیسیلیک به عنوان عامل فرعی در سطح ۵: S1 بدون کاربرد (محلول پاشی با آب خالص به عنوان شاهد)، محلول پاشی با غلظت S2: ۵۰ میکرومولار، S3: ۱۰۰ میکرومولار، S4 میکرومولار و S5: ۲۰۰ میکرومولار در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان اسید آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتار و آسکوربات پراکسیداز با افزایش تنش خشکی، افزایش یافت. همچنین محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک نیز با افزایش پرولین به عنوان اسمولیت و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان موجب تعدیل تنش خشکی و تا حدود زیادی موجب حفظ عملکرد شد. بیشترین عملکرد اسانس از تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی با مصرف ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک ۱۱/۹۸۲ کیلوگرم در هکتار) و در شرایط رطوبتی ۴۰٪ ، ۶۰٪ و ۸۰٪ نیاز آبی گیاه با مصرف ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب به میزان ۱۱/۷۳۰، ۱۱/۲۸۷ و ۱۰/۳۲۹ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. روند افزایش معنی دار در عملکرد اسانس با افزایش مصرف اسید سالیسیلیک از صفر تا ۲۰۰ میکرو مولار در این مطالعه مشاهده شد. در نهایت، بدلیل تاثیر نامطلوب تنش خشکی بر رشد و تولید گیاه ریحان، استفاده از غلظت ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک برای تعدیل تنش خشکی و حقظ عملکرد توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ریحان، اسانس، اسید سالیسیلیک، پرولین، تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی اکسیدان

* نگارندگان مسئول (Saeedsayfzadeh@iau.ac.ir) و (shahsawari110@gmail.com)

مقدمه

ریحان با نام انگلیسی Sweet basil (Javanmardi *et al.*, 2002) گیاه دارویی، یک‌ساله و علفی بوده و تنوع زیادی در سطح مورفولوژی، ترکیبات ثانویه و مخصوصاً اسانس دارد (Telci *et al.*, 2006). اهمیت گیاهان دارویی سبب شده است که هر ساله تعداد بیشتری از کشاورزان با تغییر نوع کشت از زراعت‌های معمول، به کشت گیاهان دارویی روی آورند (Sharma, 2004).

کشور ما جزو مناطقی است که نیاز رطوبتی گیاهان در طول دوره رشد، باید از طریق آب آبیاری تأمین گردد، لذا آبیاری مزارع باید به‌منظور حفظ محیط رطوبتی خاک در یک وضعیت مطلوب و به منظور به حداقل رساندن تنش وارد شده به گیاه زراعی، در طول فصل رشد صورت گیرد (Kumudini *et al.*, 2002). کاهش محتوای آب بافت‌های گیاهی تحت شرایط خشکی باعث محدود شدن رشد گیاه می‌گردد (Zhang *et al.*, 2018). مطالعه (کریمی و همکاران، ۱۳۹۹) نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گردید. Motazedi *et al* (2023) نیز گزارش کردند که تنش خشکی موجب افزایش میزان پرولین در بافت تازه برگ گردید.

برای افزایش مقاومت گیاهان به تنش، روش‌های مختلف ازجمله به نژادی و استفاده از تنظیم کننده‌های رشد به کار گرفته می‌شوند؛ در مقایسه با روش‌های به نژادی که اغلب بلند مدت و پرهزینه هستند، استفاده ازمواد شیمیایی مانند اسید سالیسیلیک آسان‌تر و ارزان‌تراست و در پاسخ‌های دفاعی گیاهان و همچنین مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از طریق تنظیم عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نقش دارد (Belkhadi *et al.*, 2010). اسید سالیسیلیک، یک شبه هورمون قابل حل در آب بوده و به‌عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی محسوب می‌گردد (Zaki & Radwanm, 2011). اسید سالیسیلک موجب افزایش تولید اسانس‌ها و مواد معطر گیاهان (Sirousmehr *et al.*, 2014) می‌شود. به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک سبب بهبود

جذب عناصر غذایی در شرایط تنش خشکی می‌شود که این خود افزایش رشد را به همراه دارد (Eraslan *et al.*, 2007). شهریور و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند که تنش خشکی موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی می‌شود. علاوه بر آن مصرف اسید سالیسیلیک نیز موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و به تبع آن در تخفیف تنش مؤثر بود. بهبود وضعیت آبی گیاهان می تواند به دلیل جذب آب بهتر گیاهان با تیمار اسید سالیسیلیک یا کنترل بیشتر در دفع آب باشد (بیاره و همکاران، ۱۳۹۹). کاربرد سالیسیلیک اسید وابسته است به غلظت آن، نحوه کاربرد و وضعیت گیاهان. به طور کلی، غلظت‌های پایین سالیسیلیک اسید، حساسیت به تنش‌های غیر زنده را کاهش می‌دهد (Abdollahi & Shekari, 2013). Rajjou *et al* (2006) گزارش کردند که نقش تحریک‌کنندگی اسید سالیسیلیک به غلظت آن بستگی دارد.

مکانیسم عمل اسید سالیسیلیک در برابر تنش‌ها به نقش آن در تنظیم آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و ترکیبات دارای گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه برمی گردد (Bayat *et al.*, 2011). در سلول‌های گیاهی، آنزیم کاتالاز پاک‌سازی کننده ملکول‌های پراکسید هیدروژن است و بیشتر در پراکسی‌زوم‌ها و گلی‌اکسی‌زوم‌ها جای گرفته است و نتیجه افزایش فعالیت این آنزیم، کاهش مقدار پراکسید هیدروژن است (فیروزه و همکاران، ۱۳۹۵). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یکی از مهم‌ترین سدهای دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد که نقش اساسی در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن دارد (Yan *et al.*, 2006). آسکوربات پراکسیداز به لحاظ تمایل زیادی که نسبت به آب اکسیژنه دارد، پراکسید هیدروژنی که مورد مصرف کاتالاز قرار نگرفته را خنثی می‌کند، بنابراین یکی از آنتی اکسیدان‌های اصلی در سمیت‌زدائی آب اکسیژنه است (Hafsi *et al.*, 2010). نتایج تحقیقات طاهری و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که میزان پرولین با مصرف اسیدسالیسیلیک تحت شرایط تنش شوری کاهش یافت. در گندم، تیمار اسید

سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در شرایط تنش خشکی شده است (Singh & Usha, 2003). Senaratna *et al* (2000) طی انجام تحقیقات خود بر روی سالیسیلیک اسید بیان نمودند که این اسید با تأثیر بر آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و تنظیم کننده-های اسمزی مثل پرولین، آثار ناشی از تنش خشکی را کاهش می‌دهد. فرزانه پلگرد و همکاران (۱۳۸۹) طی تحقیقی که بر روی ریحان انجام دادند به این نتیجه رسیدند که تنش خشکی تاثیر معنی داری بر عملکرد اسانس داشت. کم آبیاری، اسید آمینه پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان آسکوربات پراکسیداز، در برگ گیاه بادام زمینی را افزایش داد (مهری چراوده و همکاران، ۱۴۰۲). Biareh *et al* (2022) بیان نمودند که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز شده و استفاده از اسیدسالیسیلیک یک رویکرد موثر برای بهبود رشد کدوتنبل در شرایط تنش کم‌آبی است. محمدی بابازیدی و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی اثر تنش‌خشکی روی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گزارش دادند که کاربرد اسیدسالیسیلیک سبب افزایش رشد و نمو ریحان در شرایط تنش خشکی شد.

گزارش شده است که تنش خشکی و محلول پاشی اسید سالیسیلیک موجب افزایش اسید آمینه پرولین، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در بادام زمینی شد و محلول پاشی اسید سالیسیلیک، اثرات نامطلوب تنش خشکی را کاهش داد (Mehri *et al*., 2024). گزارش شده است که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌شود (Sharma & Dubey, 2005).

با توجه به مطالب فوق، تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر محلول پاشی شاخ و برگی اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، محتوای اسمولیت پرولین و عملکرد اسانس در شرایط تنش خشکی انجام شد.

ویژگی‌های مکان آزمایش

این آزمایش به صورت آزمایش مزرعه‌ای طی سال‌های زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ و ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه ای خصوصی واقع در منطقه ماهدشت شهرستان با کرج طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۹ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا با آب و هوای معتدل و سرد و متوسط بارندگی ۳۲۰ میلی متر به اجرا درآمد. (جدول ۱)، وضعیت آب وهوایی محل اجرای آزمایش و (شکل ۱) ، متوسط دما و بارندگی ماهیانه محل اجرای آزمایش را طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵ و ۱۳۹۷-۱۳۹۶ نشان می‌دهد.

جدول ۱- وضعیت آب وهوای محل اجرای آزمایش طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵و ۱۳۹۷-۱۳۹۶

شرایط آب و هوایی	۹۶-۱۳۹۵	۹۷-۱۳۹۶
میزان متوسط بارندگی سالیانه	۵۰۳/ ۳ mm	۴۵۶/ ۱ mm
حداکثر مطلق درجه حرارت سالیانه	۴۲/۵ (°C)	۴۲/۲ (°C)
متوسط درجه حرارت سالیانه	۱۶/۲ (°C)	۱۵/۴ (°C)
حداقل مطلق درجه حرارت سالیانه	-۸/۶ (°C)	-۷/۹ (°C)
میزان تبخیر سالیانه	۲۳۷۷ (mm)	۲۰۱۶ (mm)
متوسط رطوبت سالیانه	٪۴۰	٪۴۱
ساعت آفتابی	۲۹۸۱	۲۹۹۲
تعداد روزهای بارانی	۷۲	۶۴
تعداد روزهای یخبندان	۶۸	۸۴

منبع- مرکز آمار و اطلاعات اداره هواشناسی استان تهران

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه قبل از اجرای آزمایش

خصوصیات خاک	واژه معادل	حد بهینه	۱۳۹۵-۱۳۹۶	وضعیت	۱۳۹۶-۱۳۹۷	وضعیت
شوری (دسی‌زیمنس بر متر [1])	Ec (ds/m^{-1})	۰-۲	۱/۹	بدون نمک [2]	۱/۸	بدون نمک
اسیدیته	pH	۶-۷	۷/۹۴	قلیایی ضعیف [3]	۷/۹۲	قلیایی ضعیف
درصد کربن آلی	OC (%)	>۲	۰/۷۹	دارای کمبود[4]	۰/۸۷	دارای کمبود
ازت کل (٪)	Total N (%)	>۰/۲	۰/۱۲	دارای کمبود	۰/۱۴	دارای کمبود
درصد مواد خنثی شونده[5] (٪)	(TNV) (%)	۰/۱۵	۳۲	-	۳۴	-
فسفر ($mg\ kg^{-1}$)	Available P	۱۵	۸/۸	دارای کمبود	۸/۶	دارای کمبود
پتاسیم ($mg\ kg^{-1}$)	Available K	۳۰۰	۳۸۳	کفایت	۳۸۵	کفایت
شن (٪)	Sand (%)	-	۴۰	-	۴۱	-
سیلت (٪)	Silt (%)	-	۳۶	-	۳۴	-
رُس (٪)	Clay (%)	-	۲۴	-	۲۵	-
کلاس بافت خاک	Soil texture class	-	-	Sandy loam	-	Sandy loam
وزن مخصوص ظاهری (g/cm^{-3})	Bulk density	-	۱/۲۰	-	۱/۲۰	-

[1]- Ds/m^{-1}

[2]- Salt free

[3]- Weakly alkaline

[4]- Deficient

[5]- Total Neutralizing Value

مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه مورد آزمایش، قبل از اجرای آزمایش و اجرای عملیات کاشت، در زمانی که رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی[1] بود، چندین نمونه خاک از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری از قسمت‌های مختلف مزرعه، به‌طور سیگموئیدی[2] برداشت و پس از مخلوط شدن نمونه‌ها با هم، یک نمونه مرکب جهت تجزیه به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال گردید بافت خاک توسط نرم افزار Texture Autolookup ver 4.2، لومی تعیین گردید. این نرم افزار جایگزین مناسبی برای مثلث خاک می‌باشد. نتایج مهمترین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در (جدول ۱)، ارائه شده است.

[1]- Field capacity

[2]- Sigmoid

شکل ۱- متوسط دما و بارندگی ماهیانه محل اجرای آزمایش طی سال‌های زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵و ۱۳۹۷-۱۳۹۶.

روش اجرای آزمایش

طرح آزمایشی

این آزمایش به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار طی سال‌های زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ و ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه ای خصوصی واقع در منطقه ماهدشت شهرستان با کرج طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۹ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا با آب و هوای معتدل و سرد و متوسط بارندگی ۳۲۰ میلی متر به اجرا درآمد. تعداد تیمارها برابر با سطوح عوامل بکار گرفته شده در آزمایش یعنی ۲۰ تیمار در هر تکرار می‌باشد، تعداد کرت‌های آزمایشی از حاصل ضرب تعداد تیمار در تعداد سال در تعداد تکرار حاصل شد که در هر سال ۲۰ تیمار در سه تکرار و در مجموع دو سال، ۱۲۰ کرت مورد بررسی قرار گرفت. عامل آبیاری در کرت‌های اصلی و محلول پاشی اسید سالیسیلیک در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. عوامل بکار گرفته شده در این پژوهش به تشریح عبارت بودند از:

الف- سطوح مختلف آبیاری (آبیاری کامل و سه سطح تنش خشکی) در ۴ سطح شامل:

- ۱۰۰ درصد حجم آب مورد نیاز با مصرف ۶۰۰۰ متر مکعب در هکتار (I1)،
- ۸۰ درصد حجم آب مورد نیاز با مصرف ۴۸۰۰ متر مکعب در هکتار (I2).
- ۶۰ درصد حجم آب مورد نیاز با مصرف ۳۶۰۰ متر مکعب در هکتار (I3).

- ۴۰ درصد حجم آب مورد نیاز با مصرف ۲۴۰۰ متر مکعب در هکتار (I4) که در کرت‌های اصلی قرار گرفتند.

ب- محلول پاشی اسید سالیسیلیک در ۵ سطح شامل:

-عدم مصرف اسید سالیسیلیک (محلول پاشی با آب خالص) به عنوان تیمار شاهد (S1).

- محلول پاشی با غلظت ۵۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک (S2).

- محلول پاشی با غلظت۱۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک (S3).

- محلول پاشی با غلظت ۱۵۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک (S4).

- محلول پاشی با غلظت۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک (S5) که در کرت‌های فرعی قرار گرفتند.

لازم به توضیح است محلول پاشی اسیدسالیسیلیک در سه مرحله از ۳۰ روز بعد از کشت به فاصله هر ۱۰ روز انجام گردید. اسیدسالیسیلیک از شرکت بازرگانی تولیدی آبتین شیمی تهیه گردید.

در این پژوهش از بذر ریحان سبز با درصد خلوص ۹۷ درصد، قوه نامیه ۸۵ درصد و وزن هزار دانه ۱/۸ گرم استفاده گردید. بذر مورد نظر از شرکت پاکان بذر اصفهان به نام ریحان سبز افغانی تهیه شد.

آماده‌سازی زمین، ابعاد و مشخصات کرت‌های مورد آزمایش

دو قطعه زمین جداگانه با فاصله کمی نسبت به هم جهت انجام آزمایش برای هر دو سال انجام طرح، انتخاب گردید. عملیات آماده سازی زمین شامل استفاده از یک گاوآهن برگردان‌دار جهت انجام شخم عمیق در پائیز، انجام شخم سطحی و دیسک زنی در ۱۰ فروردین‌ماه بود. قبل از انجام عملیات کاشت، جوی و پشته‌هایی به فواصل ۶۰ سانتی‌متر توسط شیار بازکن[1] ایجاد گردید. کشت بذور در دو طرف پشته‌هایی به عرض ۶۰ سانتی متر و فاصله بین بذور روی ردیف‌های کشت ۱۰ سانتی‌متر (آرایش کشت ۳۰×۱۰) انجام شد. فاصله بین کرت‌های اصلی ۱/۸ متر (۳ خط نکاشت)، فاصله بین کرت‌های فرعی (یک

[1]- Furower

خط نکاشت) و فواصل تکرارها ۴ متر بود. کاشت بذر در هر دو سال آزمایش در هشتم خرداد ماه صورت گرفت؛ برای کاشت بذر، حفره‌هایی به عمق ۱ تا ۲ سانتی‌متر با فاصله ۱۰ سانتی‌متر از یکدیگر بر روی خطوط کاشت ایجاد گردید. برای اطمینان از دستیابی به درصد سبز و تراکم مطلوب در هر محل، تعداد ۴-۳ بذر کاشته شد؛ پس از سبز شدن کامل بذور و استقرار گیاهچه‌ها، عمل تنک‌کردن در مرحله ۴-۳ برگی انجام شد؛ به صورتی که بوته‌های اضافی حذف و در هر کپه، ۱ بوته باقی ماند، در نهایت، تراکم مورد نظر با حذف بوته‌های اضافی، ۳۳/۳۳ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج آزمون خاک (جدول ۲)، توصیه کودی برای تمامی کرت‌های آزمایشی اعمال گردید؛ به این صورت که با مقایسه مقادیر حد بهینه عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و مقادیر عناصر غذایی اندازه‌گیری شده برای نمونه خاک، به کمبود، بهینه و یا بیش بود عناصر غذایی در خاک پی برده شد. مقادیر کودهای نیتروژن و فسفر براساس نتایج آزمون خاک و توصیه کودی در هر دو سال آزمایش (به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره و ۱۱۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل) استفاده شد. در این تحقیق از کود پتاسیم استفاده نشد، زیرا میزان پتاسیم قابل جذب در خاک بالاتر از حد بحرانی بود.

اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی تا مرحله استقرار اولیه و رسیدن به مرحله ۴ برگی و قبل از اعمال تیمارهای آبیاری، مطابق عُرف معمول منطقه، هر ۵ روز یک بار به‌طور مرتب انجام شد. پس از مرحله ۴ برگی، تیمارهای آبیاری تعریف شده اعمال شدند؛ در کلیه آبیاری‌ها، جهت تأمین فشار و انرژی مورد نیاز از پمپ آب استفاده شد. وجین علف‌های‌هرز از مرحله دو تا چهار برگی آغاز و تا مرحله گلدهی، هر۷ روز یک‌بار به‌صورت دستی انجام شد. پیچک‌صحرایی، علف هفت‌بند، سلمه تره و تلخه ازجمله علف‌های هرز شایع در مزرعه بودند. خوشبختانه به دلیل وجود بوی تند ریحان، هیچ موردی از خسارت آفات در طول زمان اجرای‌طرح مشاهده نشد و لزومی برای

سمپاشی با سموم دفع آفات نباتی، تشخیص داده نشد؛ ضمناً هیچ‌گونه بیماری خاصی نیز در مزرعه مشاهده نشد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با استفاده از سم‌پاش پشتی در خنک‌ترین ساعت طول روز (۶ صبح) در تمام سطح گیاه و درحد اشباع انجام شد. برای محاسبه حجم آب آبیاری هر کرت، ابتدا نیاز خالص آبیاری (۶۰۰۰ مترمکعب برای آبیاری کامل) به‌دست آمد و سپس برای توزیع حجم آب آبیاری بین کرت‌ها و تنظیم دقیق توزیع آب از پمپ و کنتور آب برای اندازه‌گیری حجم دقیق آبیاری استفاده شد. سپس با استفاده از بست‌های دوطرفه که به لوله رابط وصل شده بود آب بین کرت‌ها توزیع شد. برای کنترل تنظیم دقیق‌تر آب بین شیارها نیز برای هر لوله رابط وصل به شیار یک شیر کنترل قرار داده شد تا میزان دقیق آب ورودی به شیارها تنظیم‌شده باشد. با توجه به نوع تیمارها، میزان آب آبیاری بین تیمارها پخش شد.

صفات مورد ارزیابی و نحوه اندازه‌گیری آن‌ها

در مرحله گل‌دهی کامل، نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری صفات مهم بیوشیمیایی از سه برگ بالایی بوته به میزان لازم نمونه بافت تازه تهیه گردید. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه توسط نیتروژن مایع، پودر شده و سپس برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی مثل میزان پرولین و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد.

محتوای اسید آمینه پرولین به روش (1973) Bates *et al*، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتار به روش Dhindsa *et al* (1980) و فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (1984)و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano & Asada (1981) انجام شد. عملکرد اسانس از حاصلضرب درصد اسانس در وزن خشک بوته‌ها تقسیم بر ۱۰۰حاصل گردید و بر اساس کیلوگرم در هکتار گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

قبل از انجام تجزیه واریانس از آزمون بارتلت برای اطمینان از یکنواختی خطاهای آزمایشی در دوسال آزمایش برای صفات مورد مطالعه انجام شد. تجزیه واریانس مرکب کلیه صفات بر اساس داده‌های دو سال آزمایش به صورت آزمایش کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها به روش آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel و به منظور رسم جداول از نرم افزار Word استفاده شد.

نتایج و بحث

میزان پرولین

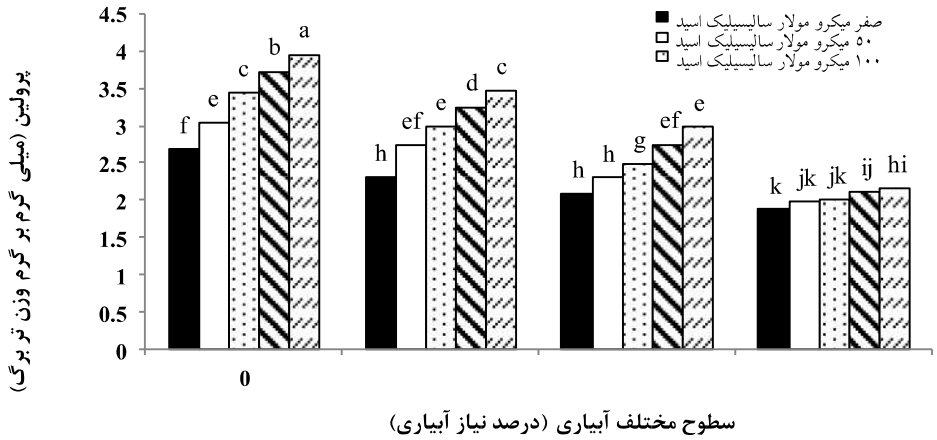
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای پرولین برگ تحت تأثیر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک قرار گرفته است ($P<0.01$). در این شرایط، اثر متقابل دوگانه بین سطوح مختلف آبیاری و محلولپاشی اسید سالیسیلیک معنی‌دار بود ($P<0.05$)؛ سایر اثرات دوگانه و همچنین اثر سال معنی‌دار نبود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بین سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک (شکل ۲)، نشان داد که با افزایش رطوبت در دسترس از ۴۰٪ تا ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ نیاز آبی ریحان، محتوای پرولین برگ کاهش یافت. درمقابل، با افزایش غلظت اسید سالیسلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار محتوای پرولین افزایش یافت و با محدودیت رطوبت در دسترس گیاه (افزایش تنش خشکی) اسید سالیسیلیک اثرات مثبت تری در روند افزایش پرولین در گیاه نشان داد، به طوریکه بیشترین میزان افزایش پرولین گیاه با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۴۰٪ به ترتیب ۱۱/۸۴ درصد، ۲۲/۰۹ درصد، ۲۸/۱۵ درصد و ۳۲/۳۲ درصد بود، درصورتی‌که کمترین میزان افزایش پرولین گیاه با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۱۰۰٪ (تامین نیاز آبی کامل گیاه) به ترتیب

۵/۵۶ درصد،۶/۹۷ درصد۱۱/۷۹ درصد و ۱۳/۴۳ درصد بود. این مطلب نشان دهنده اثرات مثبت بیشتر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی یعنی افزایش ۱۸/۸۹ درصدی بیشتر محتوای پرولین در شرایط ۴۰٪ نیاز آبی نسبت به تامین کامل نیاز آبی گیاه (۱۰۰٪ نیاز آبی) بود. افزایش معنی دار پرولین با تنش خشکی توسط محققین زیادی گزارش شده است (Fakhri *et al.*, 2023; Norouzi *et al.*, 2024).

تجمع پرولین در اثر تنش خشکی یک واکنش عمومی است که ممکن است به علت فعال سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین و در نتیجه ساخت آن در بافت‌های گیاهی و جلوگیری از شرکت پرولین در سنتز پروتئین-ها صورت می‌گیرد (Pedrol *et al.*, 2000, Mahajan & Tuteja, 2005). در شرایطی که تنش خشکی شدید یا متوسط باشد، غلظت اسید آمینه پرولین نسبت به سایر اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد. اسید آمینه ای که تحت شرایط تنش خشکی در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد به عنوان آنتی اکسیدان غیر آنزیمی مطرح می‌شود و به دلیل نقش حفاظتی که در سلول ایفا می‌کند، در شرایط تنش‌های محیطی می‌تواند گیاه را از آسیب‌های احتمالی حفظ کند. در سلول‌های تحت تنش، پرولین سبب محافظت سلول و ممانعت از ایجاد سمیت در سلول می‌شود (Bayoumi, *et al.*, 2010). دهقانی فیروزآبادی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که گیاه ریحان برای مقاومت به خشکی، مقدار اسید آمینه پرولین خود را به عنوان یک اسمولیت سازگار افزایش داد. افزایش در میزان محتوای پرولین برگ منجر به حفظ بهتر آب در سلول‌های برگ شده و افزایش مقاومت به تنش را برای گیاه به همراه دارد. گزارش شده که اسید سالیسیلیک بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی گیاه اثرگذار است (Raskin, 1992). از سوی دیگر، اسید سالیسیلیک اثر منفی تنش خشکی بر گیاهان را با فعال کردن دفاع آنتی اکسیدانی و کمک به حفظ تجزیه اسیدهای چرب، که نقش حیاتی در حفظ حالت ردوکس پروتئین‌های غشاء ایفا می‌کند، از بین می‌برند (Xu et al., 2017). بنابراین،

اسمولیت‌ها در تنظیم اسمزی شرکت می‌کنند و با افزایش فعالیت آنزیمی به عنوان یک روبنده گونه‌های فعال اکسیژن کمک به کاهش اثرات نامطلوب تنش اکسیداتیو می‌کنند (Urmi *et al.*, 2023). شوقیان و روزبهانی (۱۳۹۶) گزارش دادند که بیشترین میزان پرولین مربوط به محلول‌پاشی ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و کمترین میزان پرولین مربوط به عدم مصرف اسید سالیسیلیک بود که افزایش ۴۴ درصدی میزان پرولین را نشان داد. آن‌ها بیان کردند که افزودن اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف می‌تواند با افزایش مقدار پرولین، سبب بهبود تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی شود. افزایش مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی، از طریق بهبود خصوصیات بیوشیمیایی (مثل افزایش تولید پرولین به عنوان یک اسمولیت سازگار) منجر به حفظ عملکرد می‌شود (Mehri *et al.*, 2024).



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای پرولین تحت تأثیر برهمکنش سطوح آبیاری و محلولپاشی اسیدسالیسیلیک

فعالیت آنزیم سوپراکسیدیسموتاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳)، نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسیدیسموتاز تحت تأثیر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل این دو عامل قرار گرفته است ($P<0.01$). سایر اثرات دوگانه و همچنین اثر سال معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بین سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک (شکل ۳)، نشان داد که با افزایش رطوبت در دسترس از ۴۰٪ نیاز آبی تا ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ نیاز آبی ریحان، فعالیت آنزیم سوپراکسیدیسموتاز کاهش یافت. درمقابل، با افزایش غلظت اسید سالیسلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار فعالیت آنزیم سوپراکسیدیسموتاز افزایش یافت و با محدودیت رطوبت در دسترس گیاه (افزایش تنش خشکی) اسید سالیسیلیک اثرات مثبت تری در روند افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه نشان داد، به طوری‌که بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۴۰٪ به ترتیب ۱۰/۸۱ درصد، ۱۵/۴۱ درصد، ۲۰/۱۱ درصد و ۲۳/۹۷ درصد بود، درصورتی‌که کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاه با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۱۰۰٪ (تامین نیاز آبی کامل گیاه) به ترتیب ۲/۹ درصد، ۷/۹۲ درصد، ۱۰/۲۷ درصد و ۱۳/۳۶ درصد بود. این مطلب نشان دهنده اثرات مثبت بیشتر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی یعنی افزایش ۱۰/۶۱ درصدی بیشتر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط ۴۰٪ نیاز آبی نسبت به تامین کامل نیاز آبی گیاه (۱۰۰٪ نیاز آبی) بود. رادیکال سوپراکسید می‌تواند با پراکسیدهیدروژن ترکیب شده و رادیکال فوق‌العاده خطرناک هیدروکسیل را بوجود آورد، اما آنزیم سوپراکسیددیسموتاز قادر است رادیکال سوپراکسید را به پراکسیدهیدروژن ($H2O2$) تبدیل کند. لذا کاهش فعالیت آنزیم آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، تجمع رادیکال سوپراکسید را در پی دارد (Mittler *et al.*,

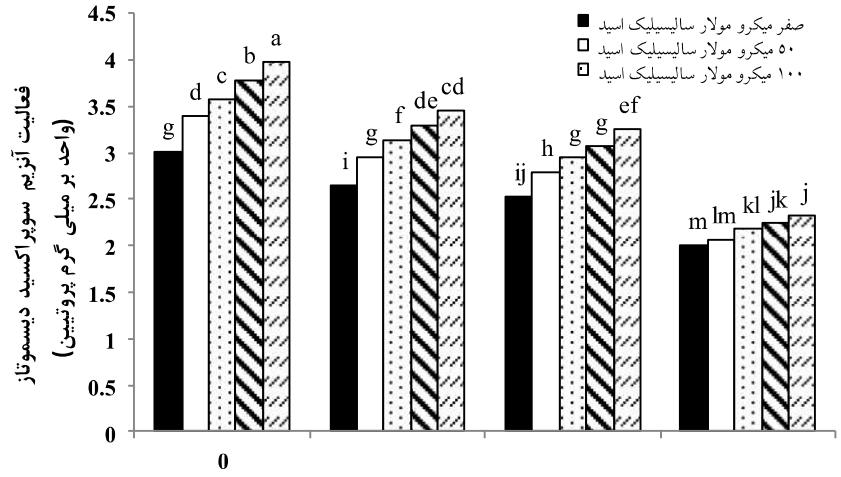
2004). در این پژوهش نیز افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت شرایط تنش خشکی باعث افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش خشکی شده و از کاهش بیشتر رشد و عملکرد گیاه جلوگیری نموده است؛ نتایج این آزمایش با نتایج به دست آمده توسط Sharma & Dubey (2005) مطابقت دارد.

سوپر اکسید دیسموتاز باعث تنظیم میزان سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن می‌شود؛ فعالیت این آنزیم در میتوکندری همراه با دیگر آنزیم‌ها می‌تواند باعث پیش‌گیری از اکسایش و تخریب غشاء میتوکندری شود (Alscher *et al.*, 1997). بنابراین افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با افزایش محلول‌پاشی اسید سالیسلیک (Singh & Usha, 2003) منجر به بهبود مقاومت گیاه در برابر آسیب ناشی از تنش‌های احتمالی در طول دوره رشد را به همراه دارد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و عملکرد اسانس گیاه ریحان

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	اسکوربات پراکسیداز	محتوای پرولین	عملکرد اسانس
سال (A)	۱	ns۰/۰۰۰۴	0.014 ns	ns۰/۰۰۴	ns۰/۷۵۴	ns۲۲۸۴/۸
تکرار (سال)	۴	۰/۰۲۲	0.017	۰/۰۰۶	۱/۷۰۹	۵۲۷/۷۹
آبیاری (B)	۳	**۴/۰۸۱	6.715 **	**۹/۲۱۸	**۱۰/۶۹	*۱۲۰/۴۱۴
سال x آبیاری	۳	ns۰/۰۲۸	0.0007 ns	ns۰/۰۰۰۶	ns۰/۰۱۷	ns۱۱/۹۳۳
خطای کرت اصلی	۱۲	۰/۰۱	0.0005	۰/۰۰۰۵	۰/۱۵	۲۲/۲۵
تیمار محلول پاشی (C)	۴	**۲/۸۶	2.025 **	**۴/۱۰۵	**۲/۶۸	**۵۱۱/۱۶
سال x تیمار محلول پاشی	۴	ns۰/۰۲۶۱	0.009 ns	ns۰/۰۱۸	ns۰/۰۳۱	ns۱/۰۰۱
آبیاری × تیمار محلول پاشی	۱۲	**۰/۶۳۱	0.033 *	**۰/۰۸۴۱	**۰/۹۴	**۱۵/۷۱
A × B × C	۱۲	ns۰/۰۰۸	0.014 ns	ns۰/۰۱۶	ns۰/۱۰۲	ns۰/۹۹۳
خطای کرت فرعی	۶۴	۰/۰۰۹	0.017	۰/۰۱۹	۰/۲۳۶	۲/۲۴
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳/۴۵	۴/۳۳	۲/۱۶	۱۷/۸۶	۸/۷۲

** ، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی دار



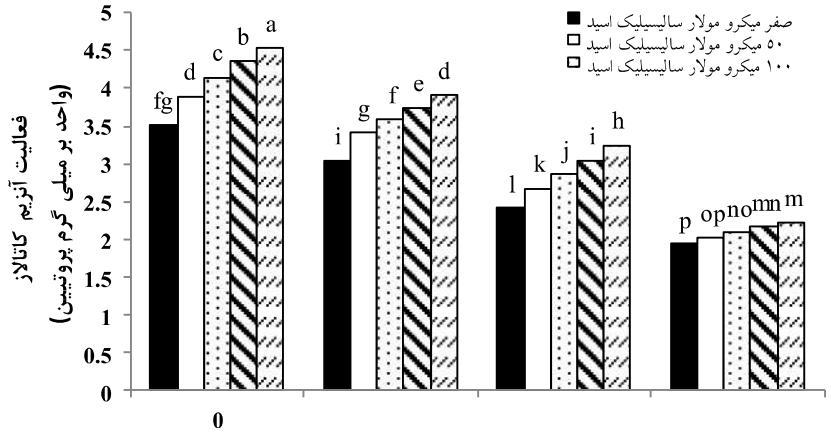
شکل ۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر آبیاری و اسیدسالیسیلیک

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک قرار گرفته است ($P<0.01$). اثر متقابل سطوح آبیاری و محلول‌پاشی روی فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود ($P<0.05$). اثر سال و سایر اثرات دوگانه و سه‌گانه معنی‌دار نبود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بین سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک (شکل ۴)، نشان داد که با افزایش رطوبت در دسترس از ۴۰٪ نیاز آبی تا ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ نیاز آبی ریحان، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. درمقابل، با افزایش غلظت اسید سالیسلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت و با محدودیت رطوبت در دسترس گیاه (افزایش تنش خشکی) اسید سالیسیلیک اثرات مثبت تری در روند افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه نشان داد، به طوریکه بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش غلظت اسید

سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۴۰٪ به ترتیب ۹/۷۷ درصد، ۱۵/۲۲ درصد، ۱۹/۳۱ درصد و ۲۲/۳۵ درصد بود، درصورتی‌که کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۱۰۰٪ (تامین نیاز آبی کامل گیاه) به ترتیب ۴/۴۳ درصد،۷/۱۸ درصد، ۱۰/۶۰ درصد و ۱۳/۰۱ درصد بود. این مطلب نشان دهنده اثرات مثبت بیشتر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی یعنی افزایش ۹/۳۴ درصدی بیشتر فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط ۴۰٪ نیاز آبی نسبت به تامین کامل نیاز آبی گیاه (۱۰۰٪ نیاز آبی) بود (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر آبیاری و اسیدسالیسیلیک

در این تحقیق همانگونه که مشاهده شد، افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش تنش خشکی در گیاه ریحان اتفاق افتاد (شکل ۴)، چرا که تنش با تأثیر بر انتقال الکترون در فرآیندهایی همانند فتوسنتز و تنفس باعث ایجاد پراکسید هیدروژن در گیاه شده است. افزایش در میزان پراکسید

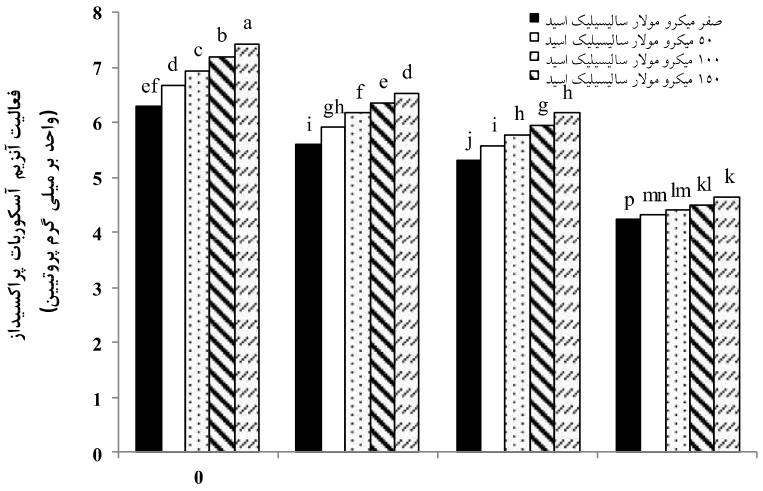
هیدروژن موجب کاهش میزان رشد و هم‌چنین افزایش پراکسیداسیون لیپیدها را به همراه داشته که در این مرحله با کاهش تنش خشکی (از۴۰ به ۶۰، ۸۰ و۱۰۰ درصد نیاز آبیاری)، آنزیم کاتالاز وارد عمل شده و با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، اثرات مخرب آن را خنثی نموده است. در توافق با این نتایج Sairam & Tyagi (2004) بیان نمودند که دخالت در تنظیم ظرفیت مقادیر مناسب از پراکسید هیدروژن به عهده آنزیم کاتالاز است. همچنین نتایج فوق مؤید افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک و به تبع آن افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز است.

فعالیت آنزیم اسکوربات پراُکسیداز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسید از تحت تأثیر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک قرار گرفته است ($P<0.01$). اثر متقابل سطوح آبیاری و محلول‌پاشی روی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود ($P<0.05$). اثر سال و سایر اثرات دوگانه و سه‌گانه معنی‌دار نبود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بین سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک (شکل ۵)، نشان داد که با افزایش رطوبت در دسترس از ۴۰٪ نیاز آبی تا ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ نیاز آبی ریحان، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت. درمقابل، با افزایش غلظت اسید سالیسلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت و با محدودیت رطوبت در دسترس گیاه (افزایش تنش خشکی) اسید سالیسیلیک اثرات مثبت تری در روند افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه نشان داد، به طوریکه بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار نیاز آبی ۴۰٪ به ترتیب ۵/۸۴ درصد، ۹/۵۰ درصد، ۱۲/۷۶ درصد و ۱۵/۴۶ درصد بود، درصورتی‌که کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در تیمار

نیاز آبی ۱۰۰٪ (تامین نیاز آبی کامل گیاه) به ترتیب ۱/۸۵ درصد،۳/۶۴ درصد، ۵/۹۹ درصد و ۸/۸۲ درصد بود. این مطلب نشان دهنده اثرات مثبت بیشتر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی یعنی افزایش ۶/۶۴ درصدی بیشتر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط ۴۰٪ نیاز آبی نسبت به تامین کامل نیاز آبی گیاه (۱۰۰٪ نیاز آبی) بود (شکل ۵).

کافی و همکاران (۱۳۸۸) به این نکته اشاره داشتند که کمبود آب موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید، پراکسیدهیدروژن، رادیکال‌های هیدرواکسید و اکسیژن نوزاد می‌شود. فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال ممکن است سبب بروز صدماتی مانند اکسیدشدن لیپیدها (در نتیجه تغییر ساختار پروتئین‌ها و اکسیدشدن گروه‌های سولفیدریل، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، فرآیندهای اکسیداتیومثل پراکسیداسیون چربی‌ها، بی رنگ شدن کلروفیل، اکسیداسیون پروتئین و تخریب اسید نوکلئیک شود (Yan *et al.*, 2006; Gambarova & Gins, 2008). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده دارای سیستم دفاعی با کارایی بالا هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی است. آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پروکسیداز، کاتالاز و ... می‌باشد. گزارش شده است که کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه منجر به خسارت‌های غیرقابل بازگشتی به گیاه می‌شود (Blokhina *et al.*, 2003).

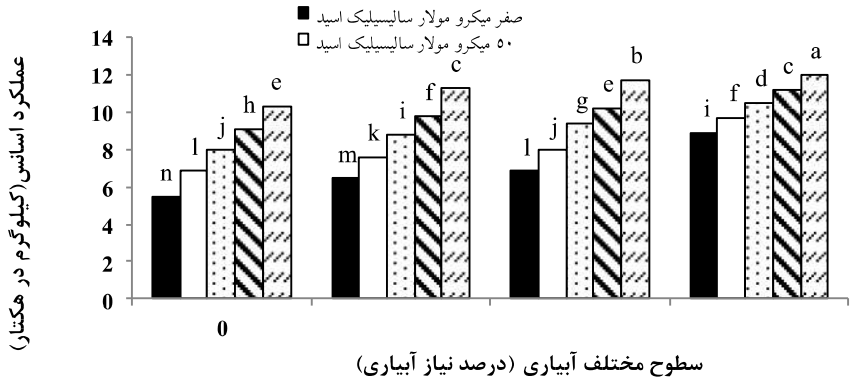


شکل ۵ - مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر آبیاری و اسیدسالیسیلیک

عملکرد اسانس

عملکرد اسانس از حاصل ضرب وزن خشک بوته (در واحد سطح) در درصد اسانس بدست آمد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که عملکرد اسانس تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک و اثر متقابل این دو عامل قرار گرفته است ($P<0.01$). سایر اثرات متقابل بین تیمارهای آزمایش و اثر سال معنی دار نبود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف آبیاری بر عملکرد اسانس بوته ریحان (شکل ۶)، نشان داد که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک در رژیم‌های مختلف رطوبتی، درصد اسانس افزایش یافت. بیشترین عملکرد اسانس بوته ریحان در این تحقیق از تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری با مصرف ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک به میزان ۱۱/۹۸۲ کیلوگرم در هکتار به دست آمد و بالاترین میزان عملکرد اسانس در شرایط رطوبتی ۴۰٪ (تنش خیلی شدید)، ۶۰٪ (تنش شدید)، و ۸۰٪ نیاز آبی گیاه (تنش ملایم) با مصرف ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب

به میزان ۱۱/۷۳۰، ۱۱/۲۸۷ و ۱۰/۳۲۹ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. با توجه به اینکه عملکرد اسانس از حاصل ضرب وزن خشک بوته در درصد اسانس بدست می‌آید، نتایج این تحقیق نشان داد که بالاتر بودن عملکرد اسانس تحت شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری نسبت به سایر شرایط رطوبتی (تنش خشکی) بیشتر به دلیل افزایش وزن خشک بوته بوده و درصد اسانس سهم کمتری در افزایش عملکرد اسانس داشته است. به نظر می‌رسد که بیشتر بوته‌های تحت تنش خشکی از رشد خوبی برخوردار نبوده و به دلیل رشد و سطح برگ کمتر، وزن اندام هوایی کاهش یافته است. کاهش عملکرد اسانس در نتیجه کاهش رطوبت خاک ناشی از افزایش فاصله آبیاری ممکن است به دلیل اثرات زیان آور تنش بر رشد و عملکرد رویشی گیاه بوده باشد که نتایج رمرودی و خمر (۱۳۹۲) تایید کننده این نتایج می‌باشد. همچنین آن‌ها گزارش دادند که با افزایش میزان تنش خشکی میزان عملکرد اسانس به طور غیر معنی داری کاسته شده است؛ در گزارش آن‌ها به این نکته اشاره شده که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، عملکرد اسانس گیاه ریحان افزایش یافته است.



شکل ۶- مقایسه میانگین عملکرد اسانس بوته ریحان تحت تأثیر آبیاری و محلول پاشی اسیدسالیسیلیک

نتایج همبستگی صفات (جدول ۴)، نشان داد که میزان پرولین با فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، رابطه مثبت و معنی‌داری دار بود. بدین معنی که با افزایش پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نیز جهت کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی افزایش یافت. ضرایب همبستگی بالا، مثبت و معنی دار صفات اسید آمینه پرولین و آنزیم‌های آنتی اکسیدان با عملکرد اسانس نشان دهنده رابطه مستقیم و شدید این صفات با عملکرد اسانس بوده، به‌طوری‌که افزایش هریک از آن‌ها موجب افزایش در عملکرد اسانس ریحان خواهد شد. در توافق با نتایج مطالعه حاضر مهری و همکاران (۱۴۰۲)، نتایج مشابهی مبنی بر همبستگی مثبت و معنی دار عملکرد بادام زمینی با محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گزارش نموده اند.

جدول ۴- نتایج همبستگی بین صفات بیوشیمیایی و عملکرد اسانس در گیاه ریحان تحت شرایط مطالعه حاضر

	(۱)	(۲)	(۳)	(۴)	(۵)
(۱)	۱				
(۲)	۰/۹۲۴**	۱			
(۳)	۰/۸۲۲**	۰/۷۰۶**	۱		
(۴)	۰/۸۱۵**	۰/۶۹۶**	۰/۹۱۹**	۱	
(۵)	۰/۷۳۵**	۰/۷۳۵**	۰/۹۳۰**	۰/۹۱۷**	۱

*و** به ترتیب نشان از معنی داری در سطح احتمال یک و ۵ درصد.

صفات مورد بررسی شامل (۱)- عملکرد اسانس (۲)- محتوای پرولین برگ، (۳)- فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، (۴)- فعالیت آنزیم کاتالاز، (۵)- فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیدار،

نتیجه گیری

محلول پاشی اسید سالیسیلیک از طریق بهبود صفات بیوشیمیایی مثل اسید آمینه پرولین به عنوان یک اسمولیت تعدیل کننده تنش خشکی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به عنوان روبنده گونه‌های فعال اکسیژن موجب حفظ عملکرد شدند. بیشترین عملکرد اسانس بوته ریحان در این تحقیق از تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبیاری با مصرف ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک به میزان ۱۱/۹۸۲ کیلوگرم در هکتار و در شرایط رطوبتی ۴۰٪ (تنش خیلی شدید)، ۶۰٪ (تنش شدید)، و ۸۰٪ نیاز آبی گیاه (تنش ملایم) نیز با مصرف ۲۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب به میزان ۱۱/۷۳۰، ۱۱/۲۸۷ و ۱۰/۳۲۹ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. روند افزایش معنی دار در عملکرد اسانس با افزایش مصرف اسید سالیسیلیک از صفر تا ۲۰۰ میکرو مولار در این مطالعه مشاهده شد. نتایج فوق بیانگر تاثیر مثبت محلول پاشی اسید سالیسیلیک به ویژه در غلظت‌های بالای مورد مطالعه (۱۵۰ و ۲۰۰ میکرو مولار) تحت شرایط مختلف رطوبتی به ویژه تنش خشکی در گیاه ریحان است و بنابراین کاربرد آن می‌تواند به عنوان یک راهکار مدیریتی کارآمد در تولید ریحان در شرایط تنش خشکی توصیه شود.

منابع

بیاره، و.، ف. شکاری، س. سیف‌زاده، ح.ر. ذاکرین، و ا. حدیدی. ۱۳۹۹. تاثیر محلولپاشی سالیسیلیک اسید در شرایط تنش کمبود آب بر عملکرد و اجزای عملکرد کدوی تخم کاغذی. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۱۴ (۲): ۱۹۲-۱۷۳.

دهقانی فیروزآبادی، س.ع.ا.، ع.ر. پازکی، و ا. صادقی پور. ۱۳۹۵. تاثیر تنش خشکی بر روی برخی صفات فیزیولوژیک گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.)،سومین همایش یافته‌های نوین در محیط زیست و اکوسیستم‌های کشاورزی،تهران، https://civilica.com/doc/586450

رمرودی، م. و ع. خمر. ۱۳۹۲. اثرات متقابل محلولپاشی اسید سالیسیلیک و تیمارهای مختلف آبیاری بر برخی ویژگی‌های کمی، کیفی و تنظیم کننده‌های اسمزی ریحان. تحقیقات کاربردی و اکوفیزیولوژی گیاهی، ۱(۱): ۱۹-۳۱.

شوقیان، م. و آ. روزبهانی. ۱۳۹۶. اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر صفات مورفوفیزیولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا قرمز در شرایط تنش خشکی. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۳۴: ۱۳۱-۱۴۷.

شهریور، ز.ف.، ا. ابطحی، و م. حاتمی. ۱۳۹۸. تأثیر تنظیم کننده رشد سالیسیلات بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی نعناع فلفلی(*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۲(۴): ۸۳۰-۸۱۵.

طاهری، س.، ط. برزگر، و. ربیعی، و ح. ربی انگورانی. ۱۳۹۴. پاسخ‌های فیزیولوژیک دو رقم ریحان به محلولپاشی سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری. به زراعی کشاورزی، ۱۸ (۱): ۲۵۹-۲۷۴.

فرزانه پلگرد، ا.، ع. غنی، و م. عزیزی ارانی. ۱۳۸۹. تأثیر تنش آبی بر خصوصیات ظاهری، عملکرد و درصد اسانس در گیاه ریحان (رقم کشکنی لولو) (Keshkeni luvelou). پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲(۱): ۱۰۳-۱۱۱.

فیروزه، ر.، ر. خاوری ژاد، ف. نجفی، و س. سعادتمند. ۱۳۹۵. اثر جیبرلین بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۱۶(۵): ۴۵-۵۶.

کافی، م.، ه، برزویی، م. صالحی، ع، کمندی، ع. معصومی و ج. نباتی، ۱۳۸۸، فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. جهاد دانشگاهی واحد مشهد، ۵۰۴ صفحه.

کریمی، س.، ب. زاهدی، و ح. مومیوند. ۱۳۹۹. بررسی تأثیر تنش کم آبی بر رشد

میزان اسانس و برخی صفات فیزیولوژیک چهار رقم ریحان *Ocimum basilicum* (L.). پژوهش‌های تولید گیاهی (علوم کشاورزی و منابع طبیعی)، ۷(۲): ۲۱۳-۲۰۱.

محمدی بابازیدی، ه.، م. فلکناز، پ. حیدری، م. همتی، و ش. فرخیان. ۱۳۹۲. تأثیر باکتری آزوسپریلیوم و سالیسیلیک اسید بر صفات فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی ریحان تحت تنش کم آبی. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی- ملکولی، ۳: ۳۶-۳۱.

چراوده، م.، ح.ر. ذاکرین، م. مصطفوی راد، س. سیف زاده، و س.ع. ولدآبادی. ۱۴۰۲. ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیک بادام زمینی به رژیم‌های مختلف آبیاری و کاربرد برگی سالیسیلیک اسید. مجله دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۳۳(۴): ۲۱۵-۱۹۹.

Abdollahi, M. and F. Shekari. 2013. Effects of priming by salicylic acid on wheat yield at different sowing dates. Seed Research, Journal of Seed Science and Technology, 3(1): 23-36.

Alscher, R., J. Donahue, and C. Cramer. 1197. Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. Physiologia Plantarum, 100: 224-233.

Bates, I.S., R.P. Waldren, and I.D. Teare. 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39 (1):205–7.

Bayat, H., H. Mardani, H. Arouie, and Y. Salahvarzi. 2011. Effects of salicylic acid on morphological and physiological characteristics of cucumber seedling (Cucumis sativus cv. Super Dominus) under drought stress. Journal of Plant Production, 18(3): 63-76.

Bayoumi, T., M.H. Eid, and E. Metwali. 2010. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology, 7: 2341-2352.

Biareh, V., F. Shekari, S. Sayfzadeh, H. Zakerin, E. Hadidi, J.G.T Beltrão, and A. Mastinu. 2022. Physiological and Qualitative Response of *Cucurbita pepo* L. to Salicylic Acid under

Gambarova, N.G. and M. S.Gins. 2008. Characteristics of oxidative stress of plants with C3 and C4 photosynthesis during salinization. Russian Agricultural Sciences, 34: 77-80.

Hafsi, C., M. Romero-Puertas, D.K. Gupta, L.A. Del Río, L.M. Sandalio, and C. Abdelly. 2010. Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. underpotassium deficiency. Environmental and Experimental Botany, 69: 129-136.

Javanmardi, J., A. Khalighi, A. Khashi, H.P. Bais, and J.M. Vivanco. 2002. Chemichal Characterisation of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Found in Local Accessions and used in Traditional Medicins in Iran، Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(21): 5878-5883.

Kumudini, S., D.J. Hume, and G. Chu. 2002. Genetic improvements in short-season soybean: II. Nitrogen accumulation، remobilization and partitioning. Crop Science, 24: 141-145. Mahajan S., and N. Tuteja, 2005. Cold, salinity and drsought stress: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444(2): 139-158.

Controlled Water Stress Conditions. Horticulturae, 8(1): 1-13.

Belkhadi, A., H. Hediji, Z. Abbes, I. Nouairi, Z. Barhoumi, M. Zarrouk, W. Chaibi, and W. Dejebali. 2010. Effects of exogenous salicylic acid on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitissimum* L. Enviromental safety, 73(5): 1004-1011.

Bolkhina, O., E. Virolainen, and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Annals of Botany, 91(2): 179-194.

Eraslan, F., A. Inal, A. Gunes, and M. Alpaslan. 2007. Impact of exogenous salicylic acid on growth، antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae, 113(2): 120-128.

Fakhri, K., S. Sayfzadeh, M. Sarajooghi, S.A.Valad Abadi and I. Hadidi Masouleh. 2023. The Effect of biochar Application and Planting Pattern on the Physiological and Biochemical Traits of Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) at Different Levels of Irrigation, Journal of Medicinal Plants and By-products, Published Online.

Rajjou, L., M. Belghazi, R. Huguet, C. Robin, A. Moreau, and C. Job .2006. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defense mechanisms. Plant Physiology, 141:910-923.

Raskin, I. 1992. Role of Salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiology. Plant Molecular Biology, 43: 439-463.

Sairam, R.K. and A.Tyag. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science, 86(3): 407-421.

Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn, and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation, 30: 157-161.

Sharma, R. 2004. Agro-Techniques of Medicinal Plants. Daya Publishing House، Delhi، 264p.

Sharma, P. and R.S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation, 46: 209-221.

Mehri Charvadeh, M., M. Mostafavi Rad, H.R. Zakerin, S. Sayfzadeh and S.A. Valadabady. 2024. Harvest date and salicylic acid impact on peanut (*Arachis hypogaea* L.) properties under different humidity conditions, Open Agriculture, Published Online.

Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery, and F.V. Breusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Science, 9(10): 490-498.

Moitazedi, S., S. Sayfzadeh, R. Haghparast, H.R. Zakerin and H. Jabari. 2023. Mitigation of drought stress effects on wheat yield via the foliar application of boron, zinc, and manganese nano-chelates and supplementary irrigation, Plant Nutrition, 46(9): 1988-2002.

Pedrol, N., P. Ramos, and M.J. Riegosa. 2000. Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology، photosynthesis and stress-induced metabolites. Plant Physiol, 157: 383-393.

Abnormal inflorescence meristem functions in salicylic acid biosynthesis to maintain proper reactive oxygen species levels for root meristem activity in Rice. Plant Cell, 29(3): 560–574.

Yan, P., J.W. Li, and L.Y. Zeng. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch). Plant Growth Regulation, 49: 157-165.

Zaki, R.N. and T.E. Radwan. 2011. Improving wheat grain yield and its quality under salinity conditions at a newly reclaimed soil by using different organic sources as soil or foliar applications. Journal of Applied Sciences Research, 7: 42-55.

Zhang, J., S. Zhang, M. Cheng, and J. Jin. 2018. Effect of Drought on Agronomic Traits of Rice and Wheat: A Meta-Analysis. Journal of Environmental Research and Public Health, 15(5):839-853.

Singh, B. and K. Usha. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation, 39: 137-141.

Sirousmehr, A., J. Arbabi, and M.R. Asgharipour. 2014. Effect of drought stress levels and organic manures on yield ،essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Environmental Science, Agricultural and Food Sciences, 8(4): 880-885.

Telci I, E., G. BayramYilmaz, and B. Avci. 2006. Variability in Essential Oil Composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). Biochemical Systematics and Ecology, 34(6): 489-497.

Urmi, T., Md. Akter, I. Moshiul, N.Z.Md. Kamrun, A.M. Anwarul, H. Moynul, H. Manzer, M. Siddiqui, M. Yoshiyuki, and H. Anamul. 2023. Combined effect of salicylic acid and proline mitigates drought stress in Rice (*Oryza sativa* L.) through the modulation of physiological attributes and antioxidant enzymes. Antioxidants,12(1): 1-25.

Hongyu, Xu, L, Z., R. Wenyuan, D. Minjuan, W. Fang, P. Jinrong, L. Jie, C. Zhixiang, and Y. Keke. 2017.

Evaluation of antioxidant enzymes activity, proline content and Basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil yield under leaf foliar application of salicylic acid in drought stress conditions

Z. Rostami[1], S. Sayfzadeh[1]*, N. Shahsawari[2]*

1. Department of Agronomy, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran.
2. Department of Plant Production, Hajiabad branch, Islamic Azad University, ajiabad, Iran.

Abstract

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is one of the plants of the mint family, it has many uses as fresh food and medicinal uses. Water is one of the most important factors in the production of plants, and its limitation in Iran, especially in recent years, is the main factor that reduces the yield of plants. In order to investigate the evaluation of antioxidant enzymes activity, proline content and Basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil yield under leaf foliar application of salicylic acid in drought stress conditions, an experiment was conducted in the form of split plots based on randomized complete block design in 3 replications in a private farm located in Mahdasht area of Karaj city in 2015-2016 and 2016-2017 crop years. Irrigation regimes in 4 levels: I_1: 100%, I_2: 80%, I_3: 60% and: I_4: 40%. The volume of water required in the main plots and salicylic acid in 5 levels: SA_1: No application (spraying solution with water net as control), SA_2: foliar spraying with a concentration of 50 µM, SA_3: 100 µM, SA_4: µM and SA_5: 200 µM were placed in the subplots. The results showed that the amount of amino acid proline and the activity of antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutar and ascorbate peroxidase increased with increasing drought stress. Also, salicylic acid foliar application, by increasing proline as an osmolyte and increasing the activity of antioxidant enzymes, moderated the drought stress and maintained yield to a large extent. The highest yield of essential oil from the treatment of 100% water requirement with the use of 200 µM salicylic acid is 11.982 kg/ha) and in humidity conditions of 40%, 60% and 80% of the water requirement of the plant with the use of 200 µM salicylic acid, respectively, at the rate of 11.730, 11.287 and 10.329 kg/ha were obtained. A significant increase in the performance of essential oil was observed in this study by increasing the consumption of salicylic acid from zero to 200 µM. Finally, due to the adverse effect of drought stress on the growth and production of basil plant, it is recommended to use a concentration of 200 µM salicylic acid to moderate drought stress and improve yield.

Keywords: Anti-oxidant enzymes, Basil, Drought stress, Essential oil, Proline, Salicylic acid

* Corresponding author (Saeedsayfzadeh@iau.ac.ir) and (shahsawari110@gmail.com)