Research Article
Nova Biologica Reperta 9(3): 200-212 (2022)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.9.3.200

مقاله پژوهشی
یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۹، شماره ۳، صفحات ۲۰۰ الی ۲۱۲ (۱۴۰۱)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

بررسی تنش خشکی بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره کولتیوارهای مختلف ریحان

فاطمه خاکدان[۱] و اطهر السادات جوانمرد[۲]
[۱]پردیس فرزانگان، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران؛ [۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
مسئول مکاتبات: فاطمه خاکدان، f.khakdan@semnan.ac.ir

چکیده. ریحان یک گیاه دارویی مهم و متعلق به تیره نعنائیان است. این گیاه در درمان بیماری‌هایی مانند معده‌درد، سردرد، یبوست، تب، عفونت‌ها و همچنین برای تنظیم و کاهش قند خون مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای ویژگی‌های ضد قارچی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است. در پژوهش حاضر اثر تنش خشکی بر غلظت فنول‌ها و فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ سه کولتیوار گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفته است. پس از کشت بذرهای سه کولتیوار گیاه ریحان (میخک، بنفش و سبز) در خاک شنی-لومی و رسیدن گیاهان به مرحله شش برگی، تنش خشکی در سه سطح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی اعمال گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فلاونول‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گیاهان اندازه‌گیری شد. بیشترین مقدار هر سه گروه ترکیبات آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با تفاوت معنی‌دار در کولتیوار ریحان سبز تحت تنش خشکی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره به صورت معنی‌داری افزایش یافت. تنش خشکی در نهایت منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه ریحان می‌شود و این گیاه برای مقابله با آسیب‌های این تنش و حذف گونه‌های فعال اکسیژن از سازوکارهای آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کند. فنول‌ها، فلاونوئیدها و فلاونول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدان قوی هستند که در محافظت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو درگیر هستند. در سه کولتیوار مورد مطالعه ریحان، با افزایش سطح تنش خشکی، غلظت و توانایی این ترکیبات در مهار رادیکال‌های آزاد کاهش یافت. در مجموع، به نظر می‌رسد که هم ژنوتیپ و هم سطح تنش خشکی بر میزان تولید آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی مورد مطالعه و در نتیجه توانایی گیاه در مهار تنش اکسیداتیو مؤثر هستند.

واژه‌های کلیدی. تنش اکسیداتیو، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، رادیکال‌های آزاد، فلاونوئیدها، فنول

The impact of drought stress on antioxidant activities of basil (*Ocimum basilicum*) cultivars extracts

Fatemeh Khakdan[1] & Athar Sadat Javanmard[2]
[1]Farzanegan Campus, Semnan University, Semnan, Iran; [2]Department of Biology, Faculty of Science, Yasuj University, Yasuj, Iran
Correspondent author: Fatemeh Khakdan, f.khakdan@semnan.ac.ir

Abstract. Basil is an important medicinal plant, belonging to the Lamiaceae family. Basil is used for the treatment of different diseases such as stomachache, headache, constipation, fever and infections, as well as to reduce and regulate the blood sugar. Moreover, Basil is known for its antibacterial, antifungal and antioxidant properties. In this study, the impact of drought stress on phenols and flavonoids concentrations, as well as the antioxidant activities of leaf extract of three basil cultivars were investigated. Seeds of basil cultivars (mikhak, green, purple) were cultivated in sand-loamy soil and drought stresses (75%, 50% and 25% of the field capacity) were applied on six-leave plants. Experiments were conducted in a completely randomized design and three repeats. Total phenols, total flavonoids and flavonols concentrations of basil leaf extracts and their antioxidant activities were measured. The maximum values (with significant differences) of three groups of non-enzymatic antioxidants and the highest levels of antioxidant activities were observed for green cultivars under mild stresses (75% of the field capacity). It was observed that antioxidant activities were elevated by the increase of the concentration of the plant extract. Drought stress results in oxidative stress in basil plants. Phenols, flavonoids and flavonols are well-known as strong antioxidants have a role in the plant's

Received 19.10.2021/ Revised 30.01.2022/ Accepted 13.02.2022/ Published 21.12.2022
دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷/ اصلاح: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰/ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴/ انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

protection against the oxidative stress. In thrice cultivars of basil which were investigated, concentrations and abilities of these compounds to inhibit free radicals were decreased by the increase of the levels of drought stresses. It seems that both basil genotypes and drought stress levels affected the production of antioxidants studied and, consequently, have impacts on the plant inhibitory abilities against the oxidative stress.

Key words. oxidative stress, antioxidant compounds, free radicals, flavonoids, phenol

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) یک گیاه دارویی و آروماتیک مهم از نظر اقتصادی است و به عنوان ماده خام در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی مورد استفاده قرار می-گیرد. این گیاه متعلق به تیره نعنائیان است و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری رشد می‌کند (Onofrei et al., 2017; Aldarkazali et al., 2019). اسانس و عصاره‌های ریحان با حضور محتویات گوناگون دارویی با تنوع وسیع ترکیبات عمده فنیل پروپانوئیدی، ترپنوئیدی و ترکیبات فنولی، از ارزش تجاری بالایی برخوردار است و به عنوان طعم‌دهنده و معطرکننده در صنایع غذایی و آرایشی- بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Makri & Kintzios, 2008). از عصاره این گیاه با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدسرطانی و ضدتشنجی در ترکیب با داروهای متنوع در صنایع داروسازی برای درمان بسیاری از بیماری‌های گوناگون مانند سردردهای عصبی، گلودرد، آسم، ورم کلیه و اسهال و تقویت عملکرد سلول‌های مغز و قلب استفاده می‌شود. ترکیبات مهم موجود در انواع عصاره‌های این گیاه شامل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها مانند سینامیک اسید، کافئیک اسید، سالویانیک اسید، رزمارینیک اسید، کیکوریک اسید، روتین، نارینجین و جنیستئین است (Loughrin & Kasperbauer, 2001; Jayasinghe et al., 2003; Lee and Scagel, 2009; Prinsi et al., 2020; Balanescu et al., 2020). این ترکیبات به عنوان شلاتورهای فلزات (کی‌لیتورهای فلزات)، ربایندهٔ رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌های قوی در بسیاری از فرایندهای زیستی عمل می‌کنند (Jayasinghe et al., 2003).

گیاهان در طول دوره رویش با عوامل مختلف تهدیدکننده محیطی مانند دمای بالا، خشکی، شوری و فلزات سنگین روبرو می‌شوند. این شرایط مهم‌ترین عوامل ایجادکننده تنش‌های محیطی غیرزیستی هستند که فرایندهای سلولی و نموی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. شواهد فیزیولوژیکی و ژنتیکی نشان می‌دهد که گیاهان برای مقابله با خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو و سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و برقراری مجدد تعادل اکسایش-کاهش سلولی، نیازمند ماشین متابولیکی پیچیده دفاعی با مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) هستند تا بدین وسیله بتوانند در پاسخ به سیگنال-های انواع تنش‌های گوناگون محیطی، سازگاری خود را تنظیم کنند (Gill & Tuteja, 2010). تحقیقات نشان داده‌اند القای ماشین آنتی‌اکسیدان سلولی برای محافظت در برابر تنش‌های مختلف محیطی بسیار مورد اهمیت هستند و دستکاری‌های ژنتیکی در ترکیبات سیستم‌های دفاعی با خواص آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در فهم بهتر نقش کارآمد آن‌ها مؤثر باشد (Munns & Tester, 2008).

اغلب تنش‌های غیرزیستی منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند هیدروکسیل، آنیون سوپراکسید و مولکول-های غیررادیکالی مانند پراکسید هیدروژن و اکسیژن یکتایی می‌شوند (Gill & Tuteja, 2010). اگرچه این مولکول‌ها در غلظت‌های کم می‌توانند در مسیرهای پیام‌رسانی سازگاری و تحمل به تنش‌های غیرزیستی عمل کنند، اما در غلظت‌های زیاد به شدت فعال و سمی هستند و به طور معمول با مولکول‌های زیستی واکنش می‌دهند (Rosales et al., 2006). گیاهان برای مقابله با خسارت‌های ناشی از تنش اکسیداتیو و حذف گونه‌های فعال اکسیژن از چندین سیستم دفاعی آنتی‌اکسیداتیو بسیار کارآمد و پیچیده با سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی مانند آسکوربیک اسید، آلفا-توکوفرول، کارتنوئید، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی استفاده می‌کنند. این سیستم‌ها از طریق تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی شامل کاهش در پتانسیل فشاری و سیالیت غشا، تغییر در غلظت‌های اسمولیت‌ها و میان-کنش‌های پروتئین-پروتئین و لیپید-پروتئین در تمام اندامک‌های سلول به تنش پاسخ می‌دهند (Dat et al., 2000; Mittler, 2002).

ترکیبات فنولی معمولاً به عنوان اجزای مهم دیواره سلولی گیاهان شناخته می‌شوند و به شدت در سازوکارهای دفاعی بر علیه تنش‌های غیرزیستی به خصوص تابش نور ماوراء بنفش، خشکی، دمای بالا، فلزات سنگین و شوری درگیر هستند (Chinnici et al., 2004; Cheynier et al., 2013). همچنین تحقیقات پیشین نشان می‌دهد برخی ترکیبات مانند کارتنوئید، فنول کل و چندین فلاونوئید به عنوان پاسخ ثانویه در برابر تنش اکسیداتیو سنتز می‌شوند (Di Ferdinando et al., 2012; Cheynier et al., 2013).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

با توجه به اینکه شناسایی جایگاه عملکردی ترکیبات آنتی-اکسیدانی با اهداف دفاعی برای غلبه بر شرایط تنش‌های غیرزیستی می‌تواند ابزاری در جهت به تصویر کشیدن تحمل تنش در گیاهان باشد و برای اصلاح و توسعه گیاهان متحمل به تنش استفاده شود، در این مطالعه به بررسی اثر تنش خشکی بر غلظت ترکیبات آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل فنول‌ها و فلاونوئیدها (از جمله فلاونول) در سه کولتیوار گیاه ریحان و همچنین قدرت گیاه برای حذف رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش اکسیداتیو پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی و شرایط کشت

بذرهای سه کولتیوار میخک، بنفش و سبز گیاه ریحان (*O. basilicum*) از استان‌های فارس و مازندران تهیه و در شرایط گلخانه کشت شدند. بذرها در خاک با بافت لومی-شنی کشت شده و به مدت ده روز تحت شرایط مناسب نور و دما (۱۶ ساعت نور و دمای ۲۲ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصافی با سه تکرار انجام شد. به این ترتیب که گیاهچه‌ها (به تعداد سه عدد در هر گلدان) تا رسیدن به مرحله شش برگی (۱۰ روزه) مرتب آبیاری شدند. دو هفته پس از کشت، تیمار تنش خشکی (W_0:۱۰۰ درصد (شاهد)، W_1: ۷۵ درصد، W_2:۵۰ درصد و W_3: ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) بر روی آنها اعمال گردید. نحوه اعمال تنش بدین صورت بود که ابتدا برای رسیدن میزان آب موجود در خاک، آبیاری تا ظرفیت زراعی انجام شد، سپس با قطع آبیاری و کاهش وزن گلدان‌ها به مقدار مشخص، تنش ظرفیت زراعی مورد نظر اعمال گردید. برای این که گیاهان طی دوره تنش، مقادیر مورد نیاز آب را دریافت کنند، روزانه دو یا سه مرتبه گلدان‌ها وزن و به حد رطوبت مورد نیاز رسانیده شدند. گیاهان به مدت ۲۹ روز در ظرفیت زراعی مورد نظر نگهداری شدند و سپس عمل نمونه‌برداری از اندام هوایی هر گیاه انجام گرفت.

محتوای نسبی آب برگ

برگ‌ها پس از قطع به سرعت درون فویل آلومینیومی پیچیده شدند و پس از قرار دادن در نایلون سریعاً به آزمایشگاه منتقل و به سرعت وزن تر آنها ثبت گردید. پس از آن به مدت ۱۶ ساعت در آب مقطر و شدت نور کم قرار داده شدند. پس از جذب آب و آماس کامل، ابتدا سطح برگ‌ها کاملاً خشک شده و آنگاه وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. بعد از آن برگ‌ها در آون در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد به مدت۲۱ ساعت خشک و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Slatyer, 1967).

((وزن خشک-وزن آماس) / (وزن خشک-وزن تر)) = محتوای نسبی آب برگ × ۱۰۰

تهیه عصاره گیاهی

برگ‌های نمونه‌های جمع‌آوری شده در سه کولتیوار و سه سطح تنش خشکی و شاهد در شرایط مناسب (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و تاریکی) خشک و سپس پودر شدند. نمونه‌های پودر شده داخل فلاسک ریخته شده و به آن‌ها متانول ۱۳ درصد (v/v) اضافه شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی دستگاه شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. در ادامه نمونه‌ها با استفاده از کاغذ واتمن فیلتر شده و سپس با دستگاه خشک‌کن عمل تبخیر حلال انجام گرفت. وزن نمونه‌های خشک‌شده اندازه‌گیری و نمونه‌ها تا شروع آنالیزها در دمای چهار درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Ghimire et al., 2011).

تعیین میزان فنول کل

برای اندازه‌گیری میزان فنول کل موجود در هر یک از عصاره-های گیاهی از روش محققان پیشین (Kim et al., 2007) استفاده گردید، به این صورت که ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره (با غلظت ۱ mg/ml) با ۵۰ میکرولیتر فولین (۱ M) مخلوط شده و حجم نمونه با استفاده از آب دیونیزه به دو میلی‌لیتر رسانیده شد. مخلوط خالص پس از ورتکس به مدت سه دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد (w/v) به مخلوط اضافه شده و پس از انجام عمل ورتکس، حجم نهایی با استفاده از آب دیونیزه به چهار میلی‌لیتر رسانیده شد. ترکیب نهایی با عمل ورتکس کاملاً مخلوط گردید و به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. در انتها، جذب هر یک از نمونه‌ها در ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. برای تعیین غلظت فنول کل، از نمودار استاندارد گالیک اسید استفاده گردید و میزان فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره گیاهی مشخص گردید.

تعیین میزان فلاونوئیدها

برای اندازه‌گیری میزان کل فلاونوئیدها به این صورت عمل شد که ۵۰۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌های گیاهی (با غلظت ۱ mg/ml) با ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آمونیوم ۱۰ درصد (w/v) و ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم (۱ M) مخلوط و حجم نهایی با استفاده از اتانول ۸۰ درصد (v/v) به پنج میلی‌لیتر رسانده شد. این مخلوط ورتکس شده و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب آن در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. با

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین، میزان فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره گیاهی مشخص گردید (Moreno et al., 2000).

سنجش میزان فلاونول‌ها

برای اندازه‌گیری فلاونول‌های موجود در عصاره‌های گیاهی، ۵۰۰ میکرولیتر از هر نمونه عصاره گیاهی (با غلظت ۱ mg/ml) با ۵۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم دو درصد (w/v) و ۱۵۰۰ میکرولیتر استات سدیم پنج درصد (w/v) مخلوط شده و به مدت ۲/۵ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در نهایت، جذب هر یک از نمونه‌ها در ۴۴۰ نانومتر خوانده شد. غلظت فلاونول‌ها با استفاده از نمودار استاندارد کوئرستین و به صورت میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره گیاهی محاسبه گردید (Loziene et al., 2007).

تعیین میزان فعالیت مهارکنندگی DPPH

مطابق با روش محققان پیشین (Sing et al., 2009)، یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف از هر یک از عصاره‌های گیاهی (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با یک میلی‌لیتر محلول DPPH (۲و۲-دی فنیل -۱-پیکریل هیدرازیل) (۳۰۰ µM) مخلوط شده و حجم نهایی با استفاده از متانول به چهار میلی‌لیتر رسانیده شد. ترکیب حاصل ورتکس شده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید و سپس جذب هر یک از نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در نهایت فعالیت مهارکنندگی بر حسب درصد مهار رادیکال‌های آزاد محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج آزمایش‌ها به صورت میانگین سه تکرار (SE ± میانگین) از هر یک از تیمارها بیان گردید. تجزیه داده‌های حاصل، با استفاده از تجزیه واریانس (two-way ANOVA) برای دستیابی به تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمارها با استفاده از روش Duncan انجام شد. همچنین p کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

محتوای نسبی آب برگ

تغییر معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ در هر سه کولتیوار تحت تنش مشاهده گردید و تغییر محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر نوع کولتیوار و سطح تنش بود (شکل ۱). نتایج نشان داد که تنش خشکی، کاهش پیوسته و معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ گیاهان ریحان ایجاد کرد. در سطح تنش ملایم (FC ۷۵ درصد)، بیشترین کاهش محتوای نسبی آب نسبت به شاهد برای کولتیوار میخک (۷/۱ درصد) مشاهده گردید و کولتیوارهای بنفش (۵/۲ درصد) و سبز (۳/۱ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. سطح دوم تنش (FC ۵۰ درصد) منجر به کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب گیاهان تحت تیمار خشکی نسبت به نمونه‌های شاهد به میزان ۲۲/۷، ۱۵/۳ و ۱۳/۷ درصد، به ترتیب برای کولتیوارهای سبز، میخک و بنفش گردید. در تنش شدید خشکی (FC ۲۵ درصد)، بیشترین کاهش در محتوای نسبی آب برگ در کولتیوار سبز (۴۷/۴ درصد کاهش نسبت به نمونه شاهد) مشاهده شد و مقدار کاهش این شاخص برای کولتیوارهای بنفش و میخک به ترتیب ۳۳/۷ و ۲۶/۵ درصد اندازه‌گیری شد.

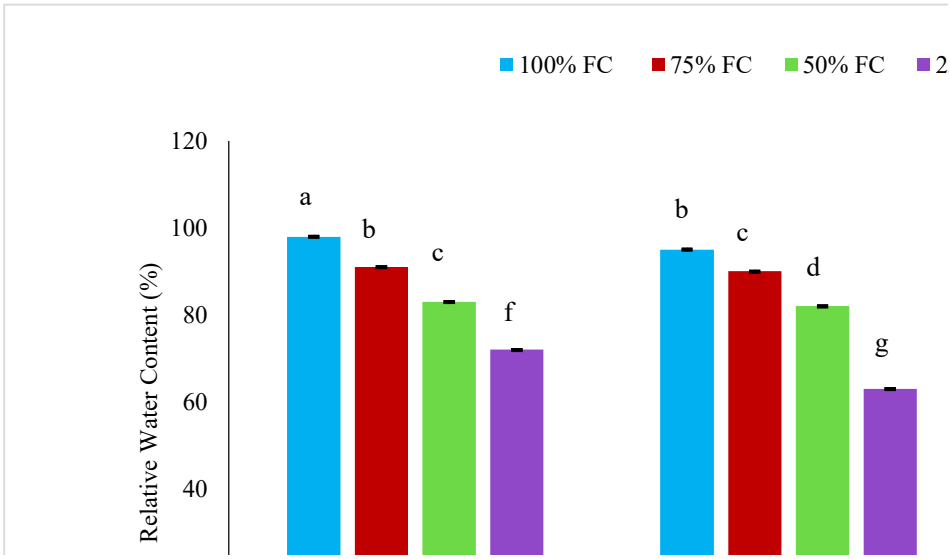
فنول کل

بررسی نتایج مقدار فنول اندازه‌گیری شده برای نمونه‌های شاهد و تحت تیمار خشکی نشان داد، مقدار فنول کل در سه کولتیوار ریحان از ۲۸/۱۲ (برای کولتیوار میخک تحت تیمار W_3) تا ۸۴/۵۴ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره (برای کولتیوار سبز سطح تیمار W_1) متفاوت بود. بالاترین سطوح فنول در کولتیوار سبز (نمونه شاهد و نمونه‌های تحت تیمار) با تفاوت معنی‌داری نسبت به دو کولتیوار دیگر مشاهده گردید و کولتیوار میخک و بنفش تحت تیمار W_1 در سطوح بعدی قرار گرفتند. در هر سه کولتیوار، تیمار W_1 به صورت معنی‌داری منجر به تولید بیشترین میزان فنول گردید. همچنین نتایج نشان داد برای مقدار فنول کل، نمونه‌های شاهد در هر سه کولتیوار پس از مقدار فنول کل در سطح W_1 در رتبه بعدی قرار داشتند و گیاهان تحت تیمار W_2 و W_3 به صورت معنی‌داری کمترین مقدار فنول را نشان دادند (شکل ۲). از بین کولتیوارهای مختلف مورد مطالعه، کولتیوار سبز و از بین سطوح تنش خشکی، سطح W_1 منجر به تولید بیشترین مقدار ترکیبات فنولی گردید.

فلاونوئید کل و فلاونول‌ها

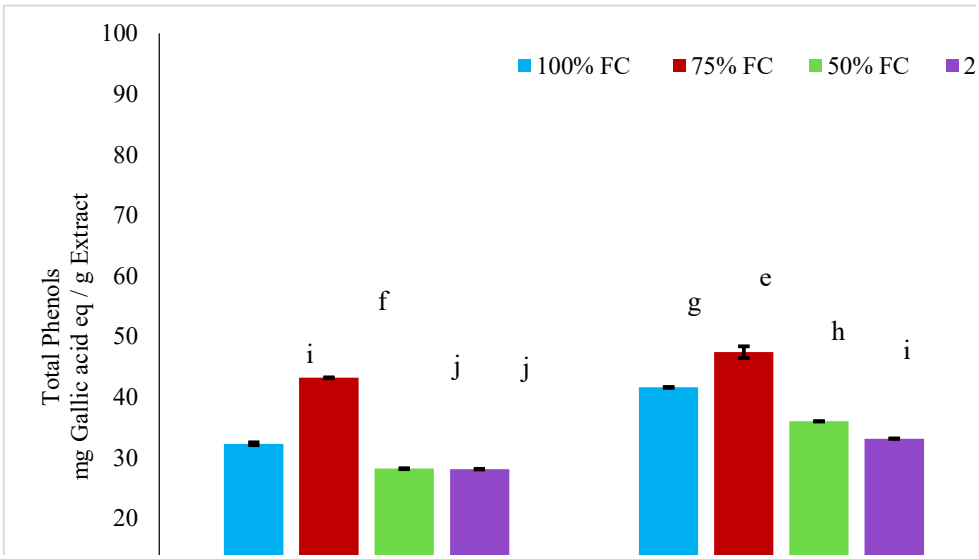
مقدار فلاونوئید کل از ۷/۶ تا ۲۱/۴ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره به ترتیب برای کولتیوار میخک تحت تیمار W_2 و کولیتوار سبز تحت تیمار W_1 مشاهده شد. بالاترین سطوح فلاونوئیدها با تفاوت معنی‌دار مربوط به کولتیوار سبز (گیاهان تحت تیمار) بود و کمترین مقادیر مجموعه فلاونوئیدها با تفاوت معنی‌دار در عصاره کولتیوار میخک (به ترتیب تحت تیمار W_2 و W_3 و شاهد) مشاهده گردید. بیشترین مقدار فلاونوئید در هر سه کولتیوار تحت تیمار W_1 مشاهده شد (شکل 3A). بیشترین مقدار فلاونول‌ها در عصاره کولتیوار سبز تحت تیمار W_1 (۴/۹ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره) و کمترین مقدار در عصاره نمونه‌های تحت تیمار W_3 کولتیوار میخک (۱/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره) مشاهده شد. در کولتیوارهای میخک و سبز، گیاهان تحت

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]



شکل ۱- محتوای نسبی آب برگ در کولتیوارهای ریحان تحت تنش خشکی. داده‌ها به صورت میانگین± SE برای سه تکرار ارائه شده است. حروف مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گیاهان در سطح ۵ درصد است (آزمون چند متغیره دانکن). FC: ظرفیت زراعی.

Figure 1. Relative water content of the basil cultivars under drought stress. Data represents as average ± SE for three repeats. Different letters represent significant difference among plants at 5% level (Multivariate Duncan test). FC: Field capacity.



شکل ۲- محتوای فنول کل در کولتیوارهای ریحان تحت تنش خشکی. داده‌ها به صورت میانگین± SE برای سه تکرار ارائه شده است. حروف مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گیاهان در سطح ۵ درصد است (آزمون چند متغیره دانکن). FC: ظرفیت زراعی.

Figure 2. Total phenols content of the basil cultivars under drought stress. Data represents as average ± SE for three repeats. Different letters represent significant difference among plants at 5% level (Multivariate Duncan test). FC: Field capacity.

تیمار W_1 و در کولتیوار بنفش، نمونه شاهد با تفاوت معنی‌دار بیشترین مقدار فلاونول‌ها را نشان دادند. روند کاهشی غلظت فلاونول-ها برای کولتیوارهای میخک و سبز به ترتیب مربوط به گیاه تحت تیمار W_2، شاهد و W_3 بود، درحالیکه این ترتیب برای کولتیوار بنفش به صورت گیاه شاهد، گیاهان تحت تیمار W_1، W_2 و W_3 مشاهده شد (شکل 3B). از بین کولتیوارهای مختلف مورد مطالعه، کولتیوار سبز و از بین سطوح تنش خشکی، سطح W_1 منجر به تولید بیشترین مقدار فلاونوئیدها و فلاونول‌ها گردید.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH

میزان فعالیت عصاره‌های سه کولتیوار مورد مطالعه ریحان برای مهارکردن رادیکال‌های آزاد DPPH در سه غلظت (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره، فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد نیز به صورت معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌ها آزاد در هر سه کولتیوار و در همه سطوح تیمار خشکی مربوط به غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره بود. در هر سه غلظت عصاره ، بیشترین درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مربوط به کولتیوار سبز تحت تیمار W_1 بود، این مقادیر به ترتیب ۲۱/۳۴، ۴۴/۶۹ و ۸۴/۶۴ درصد برای غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم عصاره در هر میلی-لیتر مشاهده شد. به علاوه نتایج نشان داد کمترین درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد برای غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میکروگرم عصاره در هر میلی‌لیتر، مربوط به کولتیوار بنفش گیاه ریحان تحت تیمار W_3 به مقداربه ترتیب ۹/۰۴ و ۱۵/۰۰ درصد و برای غلظت ۱۰۰ میکروگرم عصاره در هر میلی‌لیتر، مربوط به کولتیوار میخک گیاه ریحان تحت تیمار W_3 به مقدار ۴۸/۶۲ درصد بود. در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم عصاره در هر میلی‌لیتر، بیشترین میزان فعالیت مهارکنندگی با تفاوت معنی‌دار در کولتیوار سبز (نمونه شاهد و نمونه‌های تحت تیمار) مشاهده گردید. به صورت کلی، از بین کولتیوارهای مختلف گیاه ریحان، کولتیوار سبز و از بین سطوح مختلف تنش خشکی، تیمار W_1 منجر به بیشترین توانایی در مهار رادیکال‌های آزاد گردید (شکل ۴).

قابل ذکر است که دو ماده کوئرسترین و آسکوربیک اسید (غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به میزان ۸۹/۷۹ و ۸۹/۳۱ درصد به ترتیب نیز به عنوان مواد استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند. همانطور که نتایج نشان می‌دهد غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نمونه کولتیوار سبز تحت تنش W_1، قدرت مهارکنندگی نزدیک به این دو ماده استاندارد را از خود نشان داد.

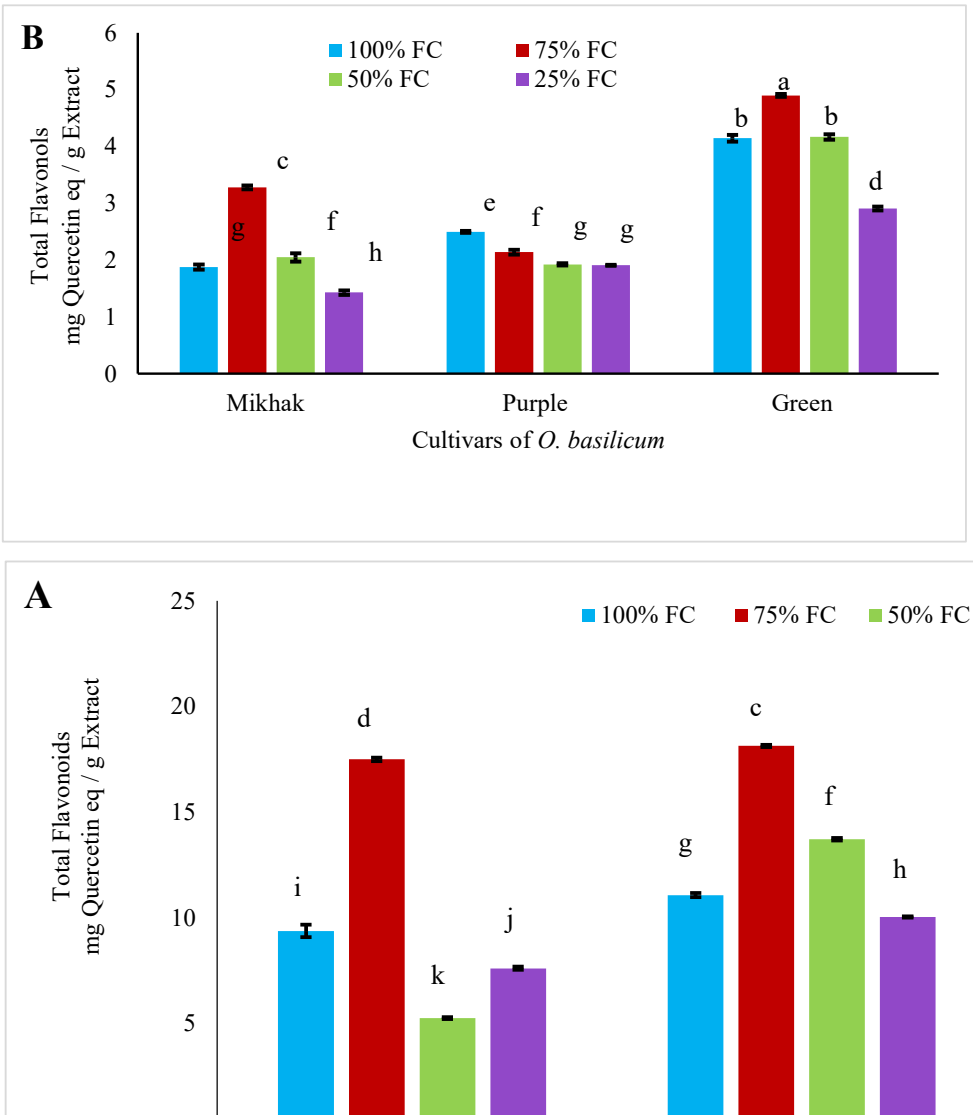
بحث

گیاهان به دلیل غیرمتحرک بودن، از طریق تغییر متابولیت‌هایی که در برهم‌کنش گیاه و محیط درگیر هستند، به شرایط تنش پاسخ می‌دهند. تغییر در غلظت این متابولیت‌ها نیز وابسته به تنظیم الگوی بیان ژن‌هایی است که محصول پروتئینی آنها در مراحل بیوسنتز آنها نقش دارند. پلی‌فنول‌ها گروه مهمی از متابولیت‌های ثانویه اختصاصی هستند که نقش فیزیولوژیکی حیاتی را در تمام دوره زندگی گیاه از جمله پاسخ به تنش‌ها ایفا می‌کنند. به خوبی مشخص شده است که مسیر بیوسنتز فنیل‌پروپانوئیدها تحت شرایط تنش‌های زیست‌محیطی مانند خشکی، دمای بالا، شوری، آلودگی‌های فلزات سنگین و تابش ماوراء بنفش فعال می‌شود و منجر به تجمع ترکیبات فنولی مختلف می‌گردد (Sharma et al., 2019; Lini´c et al., 2019). همه پلی‌فنول‌ها از طریق مسیر شیکیمات/فنیل‌پروپانوئید سنتز می‌شوند که طیف وسیعی از پلی‌فنول‌های منومری و پلی‌مری را تولید می‌کند (Sharma et al., 2019).

تنش خشکی به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که گیاهان در مواجه با آن مجموعه‌ای از پاسخ‌ها را در سطح ملکولی، سلولی، مورفولوژیکی و متابولیکی نشان می‌دهند از جمله بسته شدن روزنه‌ها، کاهش ورود دی‌اکسیدکربن، آسیب میزان فتوسنتز، عدم تعادل در برداشت و استفاده از نور، تغییرات فتوشیمیایی در کلروپلاست‌ها. این رخدادها در نهایت منجر به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو می-گردد که با تخریب هموستازی سلول همراه است (Ahmadpour et al., 2017 Hasanuzzaman et al., 2019; 2020). در واقع گونه‌های فعال اکسیژن به شدت فعال و سمی هستند و به طور معمول با ملکول‌های زیستی واکنش می‌دهند، بنابراین افزایش تولید آنها می‌تواند حیات سلول را تهدید کند. گونه‌های فعال اکسیژن از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون پروتئین‌ها، آسیب به مولکول‌های نوکلئیک اسید و جلوگیری از فعالیت آنزیم‌ها، منجر به فعال شدن مسیر مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و در نهایت مرگ سلول می‌شوند (Sharma et al., 2012).

شواهد فیزیولوژیکی و ژنتیکی نشان می‌دهند که سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه یک جزء مهم از سازوکارهای حفاظتی و دفاعی در برابر تنش‌های غیرزنده است که خسارت‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد و فعالیت آنتی اکسیدان‌ها نقش مهمی در تحمل تنش و سمیت‌زدایی و کاهش خسارت ناشی از رادیکال‌های آزاد دارد (Nath et al., 2018; Hasanuzzaman et al., 2019). سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی با وزن مولکولی پایین (شامل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، آسکوربیک اسید و

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]



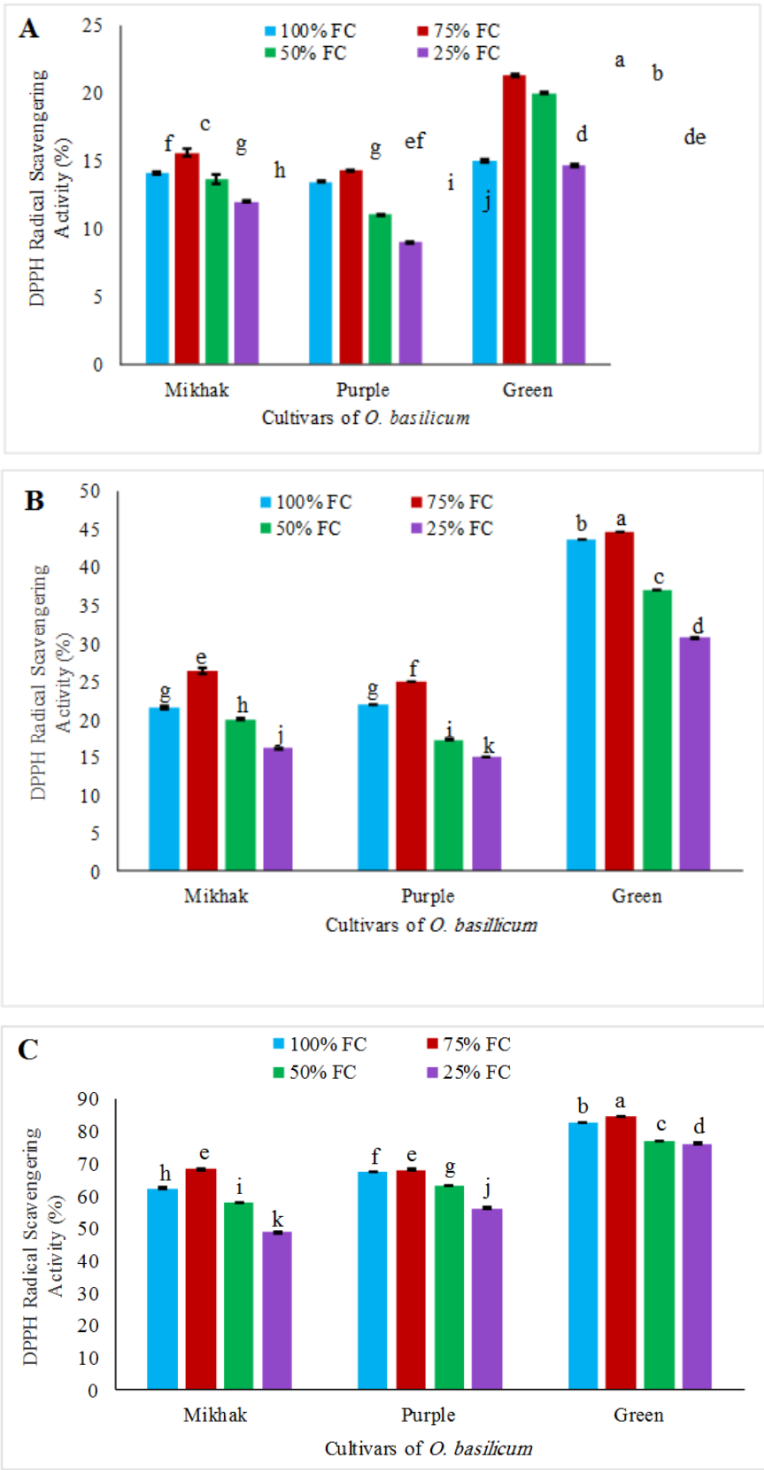
شکل ۳- محتوای فلاونوئیدها در سه کولتیوار ریحان تحت شرایط مختلف تنش خشکی. مقدار فلاونوئید کل **(A)** و فلاونول‌ها **(B)**. داده‌ها به صورت میانگین± SE برای سه تکرار ارائه شده است. حروف مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گیاهان در سطح ۵ درصد است (آزمون چند متغیره دانکن). FC: ظرفیت زراعی.

Figure 3. Flavonoids content of the basil cultivars under drought stress. Total flavonoids **(A)** and flavonols **(B)**. Data represents as average ± SE for three repeats. Different letters represent significant difference among plants at 5% level (Multivariate Duncan test). FC: Field capacity.

گلوتاتیون) از دو طریق مستقیم یا غیرمستقیم، گونه‌های فعال اکسیژن را از بین برده یا تولید آنها را کنترل می‌کنند (Carocho & Ferreira, 2013). ترکیبات فنولی در گیاهان آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند که گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی مختلف در گیاهان از بین می‌برند (Bistgani et al., 2019; Chen et al., 2019). فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه نتیجه تحریک مسیر بیوسنتز فنیل‌پروپانوئید است که شامل سنتز اسیدهای فنولی (Al-Ghamdi & Elansary, 2018; Bistgani et al., 2019) مانند کافئیک اسید، سینامیل مالیک اسید، گالیک اسید، فلوریک اسید و والینیک اسید است (Ben-Abdallah et al., 2018; Bistgani et al., 2019; Scagel et al., 2019). وضعیت آب گیاه منعکس کننده پاسخ گیاه به تنش خشکی است و محتوای نسبی آب بالا نشان دهنده وضعیت سلامت گیاه است (Verslues et al., 2006). محتوای نسبی آب برگ یک نشانگر قابل اعتماد برای سنجش حساسیت گیاه به کم آبی است (Sanchez-Rodriguez et al., 2010). در مطالعه حاضر با افزایش شدت تنش خشکی، محتوای آب نسبی در هر سه کولتیوار

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]



شکل ۴- فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط آنتی‌اکسیدان‌های عصاره گیاهی کولتیوارهای ریحان تحت شرایط تنش خشکی. میزان فعالیت عصاره‌های گیاهی کولتیوارهای گیاه ریحان برای مهارکردن رادیکال‌های آزاد DPPH در سه غلظت عصاره گیاهی ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (**A**)، ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (**B**) و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (**C**) در گیاهان شاهد و تحت تأثیر سه سطح تنش خشکی نشان داده شده است. داده‌ها به صورت میانگین ± SE برای سه تکرار ارائه شده است. حروف مختلف بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گیاهان در سطح ۵ درصد است (آزمون چند متغیره دانکن). FC: ظرفیت زراعی.

Figure 4. DPPH scavenging activity of plant extract antioxidants of the basil cultivars under drought stress. It shows the DPPH scavenging activity of basil cultivars at three concentrations of plant extract, 10 µg/ml (**A**), 50 µg/ml (**B**) and 100 µg/ml (**C**). Data represents as average ± SE for three repeats. Different letters represent significant difference among plants at 5% level (Multivariate Duncan test). FC: Field capacity.

جدول ۱- فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط آنتی‌اکسیدان‌های عصاره گیاهی کولتیوارهای ریحان تحت شرایط مختلف تنش خشکی.

Table 1. DPPH scavenging activity of plant extract antioxidants of the basil cultivars under drought stress.

Ocimum basilicum cultivars and field capacity levels	Plant extract concentrations (µg/ml)		
	10	50	100
	SE±میانگین	SE±میانگین	SE±میانگین
Mikhak (100% FC)	14.13 ± 0.07	21.61 ± 0.11	62.28 ± 0.08
Mikhak (75% FC)	15.62± 0.18	26.47 ± 0.24	68.23 ± 0.17
Mikhak (50% FC)	13.65 ± 0.21	20.07 ± 0.07	57.80 ± 0.06
Mikhak (25% FC)	12.03 ± 0.03	16.11 ± 0.1	48.62 ± 0.07
Purple (100% FC)	13.46 ± 0.04	22.03 ± 0.03	67.36 ± 0.04
Purple (75% FC)	14.34 ± 0.04	25.03 ± 0.03	68.07 ± 0.07
Purple (50% FC)	11.03 ± 0.03	17.25 ± 0.04	63.03 ± 0.02
Purple (25% FC)	9.04 ± 0.04	15.00 ± 0.01	56.07 ± 0.07
Green (100% FC)	15.07± 0.06	43.73± 0.03	82.54 ± 0.03
Green (75% FC)	21.34 ± 0.06	44.69 ± 0.04	84.64± 0.03
Green (50% FC)	20.02 ± 0.03	37.02 ± 0.02	77.07 ± 0.04
Green (25% FC)	14.07 ± 0.06	30.76 ± 0.03	76.13 ± 0.06

ریحان کاهش یافت که با پژوهش‌های دیگر تنش کم آبی همخوانی دارد (Hessini et al., 2009; Khadem et al., 2010; Damalas, 2019). گیاهان تحت تنش خشکی، در ابتدا تلاش می‌کنند تا بین آب جذب شده توسط ریشه‌ها و آب از دست رفته از طریق اندام هوایی تعادل ایجاد کنند (Verslues et al., 2006). به‌صورت معمول، گیاهان با بستن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش تبخیر، مقدار آب خارج شده از اندام هوایی را کاهش می‌دهند. البته گاهی اوقات، در مقابله گیاه با آسیب حاصل از تنش خشکی، تنظیم جذب آب توسط ریشه‌ها نسبت به کاهش تبخیر از اهمیت بیشتری برخوردار است (Aroca et al., 2012). در مطالعه‌ای پیشنهاد شده است که گونه‌های مقاوم به خشکی، کاهش اندک در محتوای نسبی آب را نشان می‌دهند. در این گیاهان تنظیم اسمزی به عنوان یک سازوکار تحمل عمل کرده و امکان حفظ پتانسیل تورگور مثبت را در طول دوره تنش فراهم می‌کند (Reddy et al., 2003). در مطالعه حاضر، در سطح تنش ملایم خشکی (۷۵ FC درصد)، کولتیوار سبز ریحان نسبت به دو کولتیوار دیگر، به میزان کمتری دچار کاهش آب نسبی برگ شده و احتمالاً با استفاده از سازوکارهای بیان شده در بالا، پاسخ فیزیولوژیک سریعتری به تنش داشته است. کولتیوارهای ریحان در سطح تنش خشکی متوسط و شدید (W_2 و W_3)، کاهش به نسبت زیادی (کاهش ۱۳/۷ تا ۲۲/۷ درصد در تنش W_2 و کاهش ۲۶/۵ تا ۴۷/۴ درصد در تنش W_3) را نشان دادند و بنابراین به نظر می‌رسد کولتیوارهای ریحان نسبت به این دو سطح تنش حساس هستند.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد، از بین سطوح تنش، سطح تنش ملایم خشکی (W_1: ۷۵ FC درصد) و از بین کولتیوارها، کولتیوار سبز بیشترین میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فلاونول‌ها را تولید کردند و بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد را نشان دادند. گیاهان تحت شرایط خشکی، در بیان ژن‌های کدکننده پروتئین‌های درگیر در پاسخ به تنش تغییر ایجاد می‌کنند. در مطالعه‌ای نشان داده شد که گیاه انگور در شرایط تنش خشکی ملایم و متوسط، بیان بسیاری از ژن‌های شرکت کننده در مسیر بیوسنتز ترکیبات فنولی مانند فنیل آلانین آمونیالیاز را افزایش داد. این فرایند نیازمند صرف انرژی زیادی بوده، و به همین دلیل سطح متوسط تا شدید تنش خشکی منجر به محدود شدن این فرایند گردید (Krol et al., 2014). علاوه بر این، افزایش در مقدار ترکیبات فنولی در شرایط تنش خشکی به شدت با تولید و توزیع آنتی اکسیدان‌های مختلف در گیاه، طول دوره و شدت تنش مرتبط می‌باشد (Reddy et al., 2004; Fischer et al., 2013). در مطالعه حاضر نیز مشاهده می‌شود که شدت تنش تأثیر معنی‌داری بر تولید ترکیبات فنولی داشته است. گرچه تنش ملایم خشکی (W_1) منجر به افزایش غلظت ترکیبات فنولی شده، ولی با افزایش سطح تنش (W_2 و W_3)، غلظت ترکیبات فنولی در هر سه کولتیوار ریحان روند کاهشی را طی کرده

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

است. در مطالعه‌ای تأثیر تنش خشکی بر میزان ترکیبات فنولی در گونه‌های مختلف بومادران (*Achillea millefolium*) نشان داد که روند تولید ترکیبات فنولی در گونه‌های مختلف، متفاوت بوده و با افزایش میزان تنش خشکی، مقدار ترکیبات فنولی تولید شده نیز افزایش یافت و بیشترین مقدار فنول کل در گیاهانی گزارش شد که تحت تنش سطح FC ۲۵ درصد قرار داشتند (Gharibi et al., 2015). نتایج این مطالعه می‌تواند نشان‌دهنده عکس‌العمل متفاوت گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی به تنش خشکی باشد. در مطالعات دیگر نیز ژنوتیپ به عنوان عامل اصلی تفاوت در محتوای ترکیبات فنولی در مواجهه گیاه با تنش در نظر گرفته شده است (Cao et al., 1996; Zheng & Wang, 2001). به هر صورت افزایش ترکیبات فنولی به عنوان یک سیستم دفاعی در برابر سطوح مختلف تنش خشکی عمل می‌کند، چنانچه در مطالعه‌ای عملکرد دو کولتیوار کانولا *Brassica napus* در معرض تنش خشکی (FC ۶۰ درصد، به مدت ۲۱ روز) را بررسی کردند. آنها دریافتند که محتوای فنول کل در هر دو کولتیوار تحت تنش مذکور افزایش یافت (Akram et al., 2018).

روند تغییرات فلاونوئید کل و فلاونول‌ها در سه کولتیوار ریحان تحت تنش خشکی به این صورت مشاهده شد که در هر سه کولتیوار، گیاه تحت تنش سطح FC ۷۵ درصد بیشترین میزان این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را تولید کرد و با افزایش میزان تنش این مقدار کاهش یافت، با این حال میزان فلاونوئید کل و فلاونول‌های اندازه‌گیری شده در همه سطوح تنش از گیاهان شاهد (FC ۱۰۰ درصد) بیشتر بود. غلظت ترکیبات فنولی و به ویژه ترکیبات فلاونوئیدی در گیاهان تحت تنش خشکی به عنوان یک شاخص تحمل تنش معرفی شده است (Celeste Varela et al., 2016). بنابراین به نظر می رسد، کولتیوارهای ریحان مورد بررسی در مطالعه حاضر، به دلیل کاهش غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در سطوح تنش W_2 و W_3 نسبت به سطح W_1، قادر به تحمل این تنش در سطح متوسط و شدید نیستند. پژوهش‌های قبلی نشان داده است که گیاه ریحان تحت تنش خشکی دچار تنش اکسیداتیو می‌شود (Khakdan et al., 2016; Al-Huqail et al., 2020; Zulfiqar et al., 2021) و ترکیبات فلاونوئیدی و به خصوص فلاونول‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های مؤثری در سیستم دفاعی گیاه ریحان در برابر تنش خشکی هستند. فلاونوئیدهایی با وزن مولکولی پایین به ویژه فلاونول‌ها و فلاون‌ها دارای پتانسیل بالایی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها به سلول هستند (Agati et al., 2012; Di Ferdinando et al., 2012; Liu et al., 2014). علاوه بر این، تنش‌های غیرزیستی بیان ژن‌های بیوسنتز فلاونوئیدها را بیش‌تنظیم کرده و سازوکارهای آنتی-اکسیدانی را فعال می‌کنند (Mehla et al., 2017).

در هر سه کولتیوار مورد مطالعه گیاه ریحان (گیاه شاهد و گیاهان تحت تیمار سطوح مختلف تنش خشکی) با افزایش غلظت عصاره گیاهی و در نتیجه افزایش غلظت آنتی-اکسیدان‌های موجود در محیط واکنش، درصد مهار رادیکال‌های آزاد به صورت معنی‌داری افزایش یافت. توانایی هر سه کولتیوار تحت تنش سطح FC ۷۵ درصد برای مهار رادیکال‌های آزاد بیش از گیاهان شاهد (FC ۱۰۰ درصد) و گیاهان تحت تنش سطوح FC ۵۰ درصد و FC ۲۵ درصد مشاهده گردید که با نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات آنتی‌اکسیدان این گیاهان (فنول کل، فلاونوئید کل و فلاونول‌ها) هماهنگ است، به عبارتی هر چه غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدان تولید شده در گیاه بیشتر باشد، آن گیاه توانایی بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد تولید شده به صورت طبیعی یا تحت تنش اکسیداتیو حاصل از شرایط تنش خشکی دارد. در مطالعه‌ای بر روی گیاه *Amaranthus tricolor* نیز افزایش مقدار فنول کل، فلاونوئید کل و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد با اعمال سطوح مختلف تنش خشکی گزارش شده است (Sarker & Oba, 2018). همچنین گیاه *Larrea divaricate* از تولید ترکیبات فنولی به عنوان راهبردی برای سازگاری با محیط نیمه‌خشک و مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده می‌کند و این راهبرد، بیشتر وابسته به تولید ترکیبات فلاونوئیدی است (Varela et al., 2016). در مطالعه ای تاثیر آنتی اکسیدان‌ها بر تشکیل ریشه و ساقه (باززایی) گیاه *Nepeta binaloudensis* Jamzad در شرایط *In vitro* گزارش شده است (Sagharyan et al., 2019).

در مجموع، با توجه به نتایج مربوط به محتوای نسبی آب، غلظت آنتی‌اکسیدان های غیرآنزیمی و توانایی کولتیوارهای ریحان تحت تنش خشکی در حذف رادیکال‌های آزاد، به

نظر می‌رسد که کولتیوارهای ریحان مورد بررسی تنها قادر به تحمل تنش خشکی در سطح ملایم W_1 هستند و تنش در سطوح متوسط و شدید (W_2 و W_3) منجر به آسیب به گیاه خواهد شد. چنانچه مطالعه قبلی بر روی این کولتیوارهای ریحان نشان داد که سطوح متوسط و شدید تنش، به شدت منجر به کاهش معنی‌دار شاخص‌های رویشی مانند ارتفاع اندام هوایی، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی گردید (Khakdan et al., 2016).

نتیجه‌گیری

به صورت کلی، به نظر می‌رسد در بین کولتیوارهای مورد مطالعه ریحان، کولتیوار سبز، توانایی بیشتری در مهار تنش اکسیداتیو حاصل از تنش خشکی توسط ترکیبات آنتی-اکسیدان غیرآنزیمی همچون فنول‌ها، فلاونوئیدها و فلاونول‌ها را دارد. در هر سه کولتیوار تحت تنش خشکی، این ترکیبات آنتی‌اکسیدان در سطح تنش ملایم خشکی (FC ۷۵ درصد) مؤثر بوده ولی با افزایش سطح تنش (FC ۵۰ درصد و FC ۲۵ درصد) توانایی آنها در کنترل تنش اکسیداتیو کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران کمال تشکر را اعلام می‌دارند.

REFERENCES

Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. & Tattini, M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. Plant Science 196: 67-76.

Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S.R., Armand, N. & Chashiani, S. 2017. Evaluation of growth features, photosynthetic pigments and antioxidant enzyme activity of lentils cultivars in response to water stress. Nova Biologica Reperta 4: 226-235. (In Persian).

Akram, N.A., Iqbal, M., Muhammad, A., Ashraf, M., Al-Qurainy, F. & Shafiq, S. 2018. Aminolevulinic acid and nitric oxide regulate oxidative defense and secondary metabolisms in canola (*Brassica napus* L.) under drought stress. Protoplasma 255: 163-174.

Aldarkazali, M., Rihan, H.Z., Carne, D. & Fuller, M.P. 2019. The growth and development of sweet basil (*Ocimum basilicum*) and bush basil (*Ocimum minimum*) grown under three light regimes in a controlled environment. Agronomy 9: 743.

Al-Ghamdi, A.A. & Elansary, H.O. 2018. Synergetic effects of 5-aminolevulinic acid and *Ascophyllum nodosum* seaweed extracts on Asparagus phenolics and stress related genes under saline irrigation. Plant Physiology and Biochemistry 129: 273-284.

Al-Huqail, A., El-Dakak, R.M., Sanad, M.N., Badr, R.H., Ibrahim, M.M., Soliman, D. & Khan, F. 2020. Effects of climate temperature and water stress on plant growth and accumulation of antioxidant compounds in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leafy vegetable. Scientifica 2020: 3808909.

Aroca, R., Porcel, R. & Ruiz-Lozano, J.M. 2012. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. Journal of Experimental Botany 63: 43-57.

Balanescu, F., Mihaila, M. D.I., Cârâc, G., Furdui, B., Vînătoru, C., Avramescu, S.M., Lisa, E.L., Cudalbeanu, M. & Dinica, R.M. 2020. Flavonoid profiles of two new approved romanian *ocimum* hybrids. Molecules 25: 4573.

Ben-Abdallah, S., Zorrig, W., Amyot, L., Renaud, J., Hannoufa, A., Lachâal, M. & Karray-Bouraoui, N. 2019. Potential production of polyphenols, carotenoids and glycoalkaloids in *Solanum villosum* Mill. under salt stress. Biologia 74: 309-324.

Bistgani, Z.E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F. & Morshedloo, M.R. 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products 135: 311-320.

Cao, G., Sofic, E. & Prior, R.L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44: 3426-3431.

Carocho, M. & Ferreira, I.C. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology 51: 15-25.

Chen, Z., Ma, Y., Yang, R., Gu, Z. & Wang, P. 2019. Effects of exogenous Ca^{2+} on phenolic accumulation and physiological changes in germinated wheat (*Triticum aestivum* L.) under UV-B radiation. Food Chemistry 288: 368-376.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]
[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]

Cheynier, V., Comte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V. & Martens, S. 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiology and Biochemistry 72: 1-20.

Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A. & Riponi, C. 2004. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 4684-4689.

Chinnusamy, V. & Zhu, J.K. 2009. Epigenetic regulation of stress responses in plants. Current Opinion in Plant Biology 12: 133-139.

Damalas, C.A. 2019. Improving drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum*) with salicylic acid. Scientia Horticulturae 246: 360-365.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E.V.M.M., Van Montagu, M., Inzé, D. & Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cellular and Molecular Life Sciences 57: 779-795.

Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A. & Tattini, M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. *In*: Ahmad, P. & Prasad, V. (Eds.). Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability 159-179. New York, Springer, 473.

Fischer, S., Wilckens, R., Jorge, J.A.R.A. & Aranda, M. 2013. Controlled water stress to improve functional and nutritional quality in quinoa seed. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 12: 457-468.

Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G. & Goli, S.A.H. 2016. Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of Achillea species. Applied Biochemistry and Biotechnology 178: 796-809.

Gill, S.S. & Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Ghimire, B.K., Seong, E.S., Kim, E.H., Ghimeray, A.K., Yu, C.Y., Ghimire, B.K. & Chung, M. 2011. A comparative evaluation of the antioxidant activity of some medicinal plants popularly used in Nepal. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 1884-1891.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M., Anee, T.I., Parvin, K., Nahar, K., Mahmud, J.A. & Fujita, M. 2019. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. Antioxidants 8: 384-434.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Khan, M.I.R., Al Mahmud, J., Alam, M.M. & Fujita, M. 2020. Regulation of reactive oxygen species metabolism and glyoxalase systems by exogenous osmolytes confers thermotolerance in *Brassica napus*. Gesunde Pflanzen 72: 3-16.

Hessini, K., Martı´nez, J.P., Gandour, M., Albouchi, A., Soltani, A. & Abdelly, A. 2009. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water-use efficiency in Spartina alterniflora. Environmental Experimental Botany 67: 312-319.

Janská, A., Maršík, P., Zelenková, S. & Ovesná, J. 2010. Cold stress and acclimation–what is important for metabolic adjustment. Plant Biology 12: 395-405.

Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T. & Wada, S. 2003. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 4442-4449.

Khadem, S.A., Galavi, M., Ramrodi, M., Mousavi, S.R., Rousta, M.J. & Rezvani-Moghadam, P. 2010. Effect of animal manure and superabsorbent polymer on corn leaf relative water content, cell membrane stability and leaf chlorophyll content under dry condition. Australian Journal of Crop Science 4: 642-647.

Khakdan, F., Ranjbar, M., Nasiri, J., Ahmadi, F.S., Bagheri, A. & Alizadeh, H. 2016. The relationship between antioxidant compounds contents and antioxidant enzymes under water-deficit stress in the three Iranian cultivars of basil (*Ocimum basilicum* L.). Acta Physiologiae Plantarum 38: 1-15.

Kim, K.T., Yoo, K.M., Lee, J.W., Eom, S.H., Hwang, I.K. & Lee, C.Y. 2007. Protective effect of steamed American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) on V79-4 cells induced by oxidative stress. Journal of Ethnopharmacology 111: 443-450.

Krasensky, J. & Jonak, C. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. Journal of Experimental Botany 63: 1593-1608.

Król, A., Amarowicz, R. & Weidner, S. 2014. Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. Acta Physiologiae Plantarum 36: 1491-1499.

Lee, J. & Scagel, C.F. 2009. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. Food Chemistry 115: 650-656.

Linić, I., Šamec, D., Grúz, J., Vujčić Bok, V., Strnad, M. & Salopek-Sondi, B. 2019. Involvement of phenolic acids in short-term adaptation to salinity stress is species-specific among Brassicaceae. Plants 8: 155.

Liu, S., Ju, J. & Xia, G. 2014. Identification of the flavonoid 3′-hydroxylase and flavonoid 3′, 5′-hydroxylase genes from Antarctic moss and their regulation during abiotic stress. Gene 543: 145-152.

Loughrin, J.H. & Kasperbauer, M.J. 2001. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenol content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 1331-1335.

Loziene, K., Venskutonis, P.R., Sipailiene, A. & Labokas, J. 2007. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. Food Chemistry 103: 546-559.

Makri, O. & Kintzios, S. 2008. *Ocimum* sp. (basil): Botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 13: 123-150.

Martı´nez, J.P., Silva, H., Ledent, J.F. & Pinto, M. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). European Journal of Agronomy 26: 30-38.

Mehla, N., Sindhi, V., Josula, D., Bisht, P. & Wani, S.H. 2017. An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance. *In*: Khan, M.I.R. & Khan, N.A. (Eds.). Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: role and regulation under abiotic stress 1-23. Singapore, Springer.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Moreno, M.I.N., Isla, M.I., Sampietro, A.R. & Vattuone, M.A. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. Journal of Ethnopharmacology 71: 109-114.

Munns, R. & Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Nath, M., Bhatt, D., Bhatt, M.D., Prasad, R. & Tuteja, N. 2018. Microbe-mediated enhancement of nitrogen and phosphorus content for crop improvement. *In*: Prasad, R., Gill, S.S. & Tuteja, N., (Eds.). Crop Improvement through Microbial Biotechnology 293-304. Cambridge, Academic Press.

Onofrei, V., Burducea, M., Lobiuc, A., Teliban, G.C., Ranghiuc, G. & Robu, T. 2017. Influence of organic foliar fertilization on antioxidant activity and content of polyphenols in *Ocimum basilicum* L. Acta Poloniae Pharmaceutica 74: 611-615.

Prinsi, B., Morgutti, S., Negrini, N., Faoro, F. & Espen, L. 2020. Insight into composition of bioactive phenolic compounds in leaves and flowers of green and purple basil. Plants 9: 22-38.

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. & Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.

Rosales, M.A., Ruiz, J.M., Hernández, J., Soriano, T., Castilla, N. & Romero, L. 2006. Antioxidant content and ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation. Journal of the Science of Food and Agriculture 86: 1545-1551.

Sagharyan, M., Ganjeali, A. & Cheniany, M. 2019. Investigating the effect of antioxidant compounds and various concentrations of BAP and NAA on the improvement of in vitro stem and root formation of *Nepeta binaloudensis* Jamzad. Nova Biologica Reperta 6: 198 -205. (In Persian).

Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L. & Ruiz, J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant Science 178: 30-40.

Sarker, U. & Oba, S. 2018. Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of Amaranthus leafy vegetable. BMC Plant Biology 18: 1-15.

Scagel, C.F., Lee, J. & Mitchell, J.N. 2019. Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. Industrial Crops and Products 127: 119-128.

Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M. & Zheng, B. 2019. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules 24: 2452-2474.

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R. & Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in Plants under stressful conditions. Journal of Botany 2012: 25-31.

Singh, H.P., Mittal, S., Kaur, S., Batish, D.R. & Kohli, R.K. 2009. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from residues of *Artemisia scoparia*. Food Chemistry 114: 642-645.

Slayter, R.O. 1967. Plant-Water Relationships. London, Academic Press, 366 pp.

Varela, M.C., Arslan, I., Reginato, M.A., Cenzano, A.M. & Luna, M.V. 2016. Phenolic compounds as indicators of drought resistance in shrubs from Patagonian shrublands (Argentina). Plant Physiology and Biochemistry 104: 81-91.

Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. & Zhu, J. K. 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant Journal 45: 523-539.

Zhan, Y. A. X., Wang, S., Sun, M. & Zhou, H. 2020. Basil polysaccharides: A review on extraction, bioactivities and pharmacological applications. Bioorganic and Medicinal Chemistry 28: 115179-115189.

Zheng, W. & Wang, S.Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 5165-5170.

Zulfiqar, F., Chen, J., Finnegan, P.M., Younis, A., Nafees, M., Zorrig, W. & Hamed, K.B. 2021. Application of trehalose and salicylic acid mitigates drought stress in sweet basil and improves plant growth. Plants 10: 1078-1085.

*****

How to cite this article:

Khakdan, F. & Javanmard, A.S. 2022. The impact of drought stress on antioxidant activities of basil (*Ocimum basilicum*) cultivars extracts. Nova Biologica Reperta 9: 200-212. (In Persian).

خاکدان، ف. و جوانمرد، ا. ۱۴۰۱. بررسی تنش خشکی بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره کولتیوارهای مختلف ریحان. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۹: ۲۱۲-۲۰۰.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1401.9.3.5.5]

[DOI: 10.52547/nbr.9.3.200]