

## مطالعه برخی از صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت کاربرد

### فیتوهورمون‌ها و شبه فیتوهورمون‌های رشد

فریده نوروزی شهری، سعید جلالی هنرمند\*، محسن سعیدی، فرزاد مندنی

گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۱۱/۰۷)

#### چکیده

اخیراً دود حاصل از سوختن گیاهان به جهت داشتن ترکیبات بیومحرک بر فرآیندهای زیستی و بیوشیمیایی در گروه فیتوهورمون‌های رشد قرار داده می‌شود. به منظور بررسی اثر شبه فیتوهورمونی دود به دست آمده از گیاه شقایق روی برخی از خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان، آزمایشی با اندازه‌گیری‌های مکرر در طی سال ۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل هشت سطح محلول‌پاشی برگ (شاهد، دودآب با غلظت‌های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰، ۱:۵۰۰ و ۱:۱۰۰ (v/v) و فیتوهورمون‌های سابتوکینین، جیبرلیک اسید و اکسین هر یک با غلظت ۵۰ میکرومولار) با سه تکرار و در دو چین برداشت گیاه بود. نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای دودآب ۱:۱۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) بدون اختلاف معنی‌دار با سبتوکینین، موجب بهبود وضعیت تبادلات گازی و افزایش محتوای کلروفیل شد. تمامی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل نیز تحت کاربرد فیتوهورمون‌ها و دودآب افزایش قابل‌ملاحظه‌ای داشتند. سطوح مختلف محلول‌پاشی (به ویژه دودآب ۱:۵۰۰ و ۱:۱۰۰ (v/v)) موجب کاهش نشت الکترولیت‌ها از غشای سلولی و محتوای کربوهیدرات‌های محلول شد. بیشترین محتوای فنول کل و آنتوسیانین‌ها نیز به ترتیب تحت دودآب ۱:۱۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) حاصل شد. دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) بدون اختلاف معنی‌دار با فیتوهورمون‌های اکسین و جیبرلیک اسید موجب افزایش معنی‌دار سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های آبی دود به خصوص در غلظت ۱:۱۰۰ (v/v) بدون اختلاف معنی‌دار با فیتوهورمون‌های سنتزی توانایی تقلیل محدودیت‌های بیوشیمیایی گیاه ریحان را داشته و می‌تواند وضعیت رشد آن را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، جیبرلیک اسید، دودآب، سبتوکینین، فتوستز، کاریکینولید

#### مقدمه

بیواکتیو دود از جمله کاریکین‌ها (Karrikins)، مختص به دود و آتش نبوده و به طور طبیعی در طبیعت وجود دارند. مثلاً از تجزیه میکروبی زیست‌توده یا در فرآیند متابولیسم گیاهان به وجود می‌آیند (Chiwocha et al., 2009). کاریکین‌ها تحت عنوان خانواده جدید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شناخته می‌شوند و به احتمال زیاد با دیگر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی

اثر دود بر گیاهان احتمالاً یک صفت بسیار قدیمی و مستقل از تبارزایش (Phylogenetics)، چرخه زندگی، ساختار بذر، اکوسیستم و ژئوگرافی است (Chiwocha et al., 2009). در حال حاضر مشخص نیست که چرا این پاسخ‌ها تاکنون حفظ شده است ولی یک تئوری بیان می‌کند که احتمالاً ترکیبات

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: sjhonarmand@yahoo.com

یافت (Al-Rumaih *et al.*, 2002).

سیتوکینین‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز (Chaloupkova and Smart, 1994)، سوپراکسید دیسموتاز (Kurepa *et al.*, 1997) و کاتالاز (Petit-Paly *et al.*, 1999) را افزایش می‌دهند. کاهش در محتوای کربوهیدرات‌های محلول در دانه برنج (*Oryza sativa* L.) پس از استفاده از اکسین و کیتین، در مقایسه با شاهد مشاهده شد (Javid *et al.*, 2011). محلول‌پاشی گیاه ذرت (*Zea mays* L.) با کیتین موجب افزایش محتوای نشاسته و کاهش نشت الکترولیت‌ها و کاهش محتوای کربوهیدرات‌های محلول شد (Kaya *et al.*, 2010). تحریک تولید آنتوسیانین درون‌زاد در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه *Haplopappus gracilis* (Nutt.) A. Gray با استفاده از کیتین گزارش شده است (Zhang and Furusaki, 1999).

با وجود اینکه اغلب مطالعات روی ترکیبات دود به‌دست آمده از گیاهان محرک جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌باشند، برخی نیز نشان می‌دهد که دود و ترکیبات مؤثره آن به‌واسطه نقش فیتوهورمونی یا برهمکنش با فیتوهورمون‌های درونی گیاه، بر روند متابولیسمی سلول نیز اثر می‌گذارند. تیمار دود می‌تواند به دو شکل آئروسول و عصاره آبی آن (دودآب) بر گیاهان اعمال شود. تیمار یک تا دو ساعت دود آئروسول حاصل از برگ گیاهان راش هندی (*Millettia pinnata* (L.) Panigrahi)، صنوبر شرقی (*Populus deltoids* W. Bartram) (ex Marshall)، توت سفید (*Morus alba* L.)، کلش برنج و مرغ (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) موجب افزایش شاخص پایداری غشا، محتوای کلروفیل و محتوای کربوهیدرات‌های محلول شد (Iqbal *et al.*, 2018).

در یک آزمایش گلخانه‌ای روی گیاه *Eragrostis tef* Trotter (Zucc.)، تمامی تیمارهای مربوط به دود شامل دود آئروسول (به مدت ۱۰ دقیقه)، دودآب (۱:۵۰۰ (v/v)) و کاریکینولید ( $10^{-8}$  مولار) به‌طور معنی‌داری موجب افزایش محتوای کلروفیل و همچنین کاهش نسبت کلروفیل a به b در مقایسه با شاهد شدند (Ghebrehiwot *et al.*, 2013). برخی از

برهمکنش دارند (Chiwocha *et al.*, 2009). فعالیت شبه فیتوهورمونی این ترکیبات (Jain *et al.*, 2008) استفاده از دودآب را به‌عنوان تکنیکی کم هزینه در بخش کشاورزی مطرح نمود (Kulkarni *et al.*, 2010). اگرچه در ابتدا ترکیبات موجود در دود به‌دست آمده از گیاهان به‌عنوان یک محرک جوانه‌زنی شناسایی شده‌اند (Van Staden *et al.*, 2004; Flematti *et al.*, 2004)، ولی موجب تحریک سایر صفات رشد مانند عملکرد و بهبود وضعیت بیوشیمیایی گیاه نیز می‌شوند (Light *et al.*, 2009).

بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که فیتوهورمون‌ها نقش مهمی در تنظیم تشکیل کلروفیل گیاه (Kulaeva *et al.*, 2002)، فتوستتزر (Khan *et al.*, 2002) و هدایت روزنه‌ای (Mori *et al.*, 2006) ایفا می‌کنند. سیتوکینین‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم صفات فتوستتزی مانند محتوای کلروفیل، سنتز و تجزیه پروتئین‌های فتوستتزی، فراساختمان کلروپلاست‌ها، انتقال الکترون و فعالیت‌های آنزیمی را تحت تأثیر قرار دهند. محلول‌پاشی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) با غلظت پنج میکرومول در لیتر جیبرلیک اسید در چهار مرحله، به ترتیب موجب افزایش ۱۲۲/۱۱ و ۱۲۵/۸۹ درصد در محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها شد (Kavina *et al.*, 2011).

افزایش سرعت فتوستتزر و فعالیت آنزیم رویسکو در گیاهان پس از تیمار با سیتوکینین افزایش یافت (Xie *et al.*, 2004). همچنین محلول‌پاشی ۵۰ میکرومولار از هر یک از فیتوهورمون‌های رشد (اکسین، سیتوکینین و جیبرلیک اسید) تبدلات گازی پنبه (*Gossypium hirsatum* L.) را تحت تأثیر قرار داد. این تیمارها موجب افزایش سرعت فتوستتزر خالص، سرعت تعرق و هدایت روزنه‌ای شدند (Kumar *et al.*, 2001). محلول‌پاشی گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) با غلظت‌های مختلف اکسین و کیتین باعث بهبود کارایی فتوستتزر، افزایش فعالیت آنزیم‌های کربنیک آنهیدراز، نیترات ردوکتاز و محتوای پروتئین برگ شد (Shah, 2011). مقدار پروتئین‌های محلول و باندهای پروتئینی در گیاه لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) پس از محلول‌پاشی با جیبرلیک اسید افزایش

و ماش (*Vigna radiate* (L.) R. Wilczek) مورد استفاده قرار گرفت و مشاهده شد که فعالیت شبه سیتوکینینی بوتنولید در غلظت‌های  $10^{-10}$  تا  $10^{-1}$  مولار معادل با  $10^{-8}$  تا  $10^{-5}$  مولار کیتین بود. همچنین غلظت بوتنولید اپتیمم برای فعالیت شبه اکسینی معادل با  $10^{-7}$  تا  $10^{-8}$  مولار بود (Jain et al., 2008). در مطالعه دیگر روی گیاه *Eucomis autumnalis* (Mill.) Chitt. مشاهده شد که دودآب حاصل از گیاه *Themeda triandra* Forssk. در غلظت ۱:۵۰۰ (v/v) و کاریکینولید  $10^{-8}$  مولار موجب افزایش در ریشه‌زایی، اندازه برگ، اندازه پیاز و زیست‌توده نسبت به شاهد و فیتوهورمون‌های اکسین و سیتوکینین شدند. هر دو تیمار دودآب و کاریکینولید موجب تجمع سیتوکینین درون‌زاد بیشتری نسبت به تیمارهای شاهد و اکسین شدند (Aremu et al., 2016). علی‌رغم اینکه مطالعات متعددی روی اثر دودآب و کاریکینولید بر جوانه‌زنی و همچنین رشد و عملکرد چندین گونه گیاهی انجام شده است، لیکن مطالعه روی پاسخ‌های فیزیولوژیک و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهان بسیار محدود است. این پژوهش به بررسی اثرات شبه فیتوهورمونی دود به‌دست آمده از گیاه شقایق (*Papaver rhoeas* L.) روی گیاه دارویی ریحان در مقایسه با تنظیم‌کننده‌های رشد سنتزی (سیتوکینین، اکسین و جیبرلیک اسید) انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی به‌صورت اسپلینت پلات در زمان در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای مختلف محلول‌پاشی برگ‌گی گیاه دارویی ریحان به‌عنوان عامل اصلی در هشت سطح و دو چین برداشت به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. محلول‌پاشی شامل چهار غلظت دودآب (۱:۵۰۰۰، ۱:۱۰۰۰، ۱:۵۰۰ و ۱:۱۰۰ (v/v)) و سه فیتوهورمون سیتوکینین، اکسین و جیبرلیک اسید (هر یک با غلظت ۵۰ میکرومولار) بود. فیتوهورمون‌های مورد استفاده عبارت از ۶-بزیل آمینوپورین (6-BAP) (سیتوکینین)،

مطالعات نیز افزایش نسبت کلروفیل a به b، همچنین افزایش نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئید در گیاهان تیمار شده با دود را نشان می‌دهند (Aremu et al., 2012b, Ghebrehiwot et al., 2013). مطالعه روی گیاه وسمه (*Isatis indigotica* L.) تحت تیمار دودآب حاصل از گیاهان چنار خاوری (*Platanus orientalis* L.) و چنار آمریکایی (*Platanus occidentalis* L.) در غلظت‌های مختلف نشان داد که سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق و هدایت روزنه‌ای افزایش می‌یابد. در این مطالعه غلظت دی‌اکسید کربن بین سلولی کاهش یافته و حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تأثیر دودآب قرار نگرفت. عملکرد فتوشیمیایی فتوسیستم II به‌طور معنی‌داری از دودآب با غلظت ۱:۱۰۰۰ (v/v) متأثر شد (Zhou et al., 2013).

مقدار هدایت روزنه‌ای، سرعت آسمیلاسیون دی‌اکسید کربن و غلظت دی‌اکسید کربن بین سلولی در گیاه *Chrysanthemoides monilifera* (L.) Norl تحت تیمار دود آئروسول حاصل از گیاه مرغ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Gilbert et al., 2002). دودآب در غلظت‌های پایین شاخص‌های فتوسنتزی را در میکروگیاه موز (*Musa spp.* L.) بهبود بخشید (Aremu et al., 2012a). فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) و ذرت نیز تحت تیمارهای دودآب ۱:۵۰۰ (v/v)، کاریکینولید  $10^{-8}$  مولار و جیبرلیک اسید  $10^{-5}$  مولار افزایش، ولی فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت (Sunmonu et al., 2016). همچنین گزارش شد که محتوای کربوهیدرات‌های محلول در مدت زمان‌های کم دود آئروسول کاهش و در مدت زمان‌های بالا افزایش می‌یابد (Iqbal et al., 2018).

برخی از محققان پاسخ‌های شبه فیتوهورمونی دودآب و کاریکینولید را که احتمالاً در اثر برهمکنش آن‌ها با فیتوهورمون‌های رشد درونی است گزارش نمودند (Chiwocha et al., 2009; Jain et al., 2008). در یک مطالعه به‌منظور تعیین فعالیت شبه فیتوهورمونی ترکیبات بیواکتیو دود، غلظت‌های مختلفی از بوتنولید استخراج‌شده از دودآب به‌همراه کیتین و اکسین روی کالوس سویا (*Glycine max* (L.) Merr.)

UK) اندازه‌گیری شد. آخرین برگ توسعه‌یافته گیاه با استفاده از گیره مخصوص دستگاه به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و شاخص زنده‌مانی (PI)، حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Maximum Photochemical Efficiency of PS-II) (Fv/Fm) و کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب فتوسیستم II (Fv/F0) در برگ‌های سازگار به تاریکی اندازه‌گیری شد. سرعت فتوستتیز در واحد سطح برگ، هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق، غلظت دی‌اکسید کربن اتاقک زیر روزنه و دمای برگ با دستگاه فتوستتیزتر (Portable LCI)، ساخت شرکت Bio scientific Ltd (اندازه‌گیری شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها در ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح انجام شد. هدایت مزوفیلی از تقسیم سرعت فتوستتیز به غلظت دی‌اکسید کربن درون روزنه‌ها به دست آمد (Fischer et al., 1998). همچنین به منظور تعیین کارایی مصرف آب فتوستتیزی، سرعت فتوستتیز به هدایت روزنه‌ای تقسیم شد (Ritchie et al., 1990).

جهت اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول و سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، ابتدا اقدام به تهیه بافر استخراج، عصاره گیاهی و بافر فسفات شد. اندازه‌گیری محتوای پروتئین‌های محلول موجود در برگ به روش Bradford (۱۹۷۶) و با استفاده از عصاره گیاهی و معرف بلو انجام شد. برای رسم منحنی استاندارد محلول‌های صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام از آلبومین گاوی در بافر استخراج تهیه شد. مقدار جذب نوری تیمارها و محلول‌های استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و سپس نمودار پراکنش این دو پارامتر رسم و خط رگرسیون مربوطه برازش داده شد. سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Maehly و Chance (۱۹۵۵) با استفاده از عصاره گیاهی و سوبسترای آنزیم و محاسبه  $H_2O_2$  مصرف‌شده در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار  $H_2O_2$  موجود در مخلوط واکنش با استفاده از مفهوم قانون بیر-لامبرت و ضریب خاموشی آنزیم پراکسیداز (۰/۰۲۶۶ سانتی‌متر بر مول) محاسبه شد. در نهایت سرعت فعالیت این آنزیم به صورت میکرومول  $H_2O_2$  مصرف‌شده در دقیقه (تعداد واحدهای آنزیم) در

جیبرلیک اسید ( $GA_3$ ) و ۳- ایندول استیک اسید (IAA) (اکسین) ساخت شرکت سیگما آلدریچ بودند. تیمار شاهد شامل محلول‌پاشی با آب مقطر بود. در هر ۲۵۰ میلی‌لیتر از محلول‌های مورد استفاده که شامل آب مقطر واحدهای آزمایشی شاهد نیز می‌شد از یک قطره توئین ۲۰ به عنوان سورفکتانت استفاده شد. بستر کاشت شامل خاک مزرعه، کود دامی و ماسه به نسبت ۱:۱:۱ بود. بذر گیاه ریحان از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد.

پس از استقرار بوته‌ها در هر چین به مدت چهار هفته و در هر هفته دو روز متوالی بین ساعت‌های ۱۸ تا ۲۰ به وسیله سمپاش دستی محلول‌پاشی شد. جهت تهیه دودآب بر مبنای روش Van Staden و همکاران (۲۰۰۴) دستگاهی بهبودیافته با شماره ثبت اختراع ۹۹۰۰۱۹ در سازمان ثبت اسناد و املاک کشور طراحی شد. با استفاده از این دستگاه دود ناشی از سوختن اندام‌های خشک گیاه شقایق در مرحله گلدهی، ابتدا از مخزنی حاوی آب مقطر تا زمان سوختن کامل ماده گیاهی عبور داده شد، به طوری که آب مقطر کاملاً به رنگ تیره و چگال درآمد (Light et al., 2005). محلول حاصل پس از عبور از کاغذ صافی نمره یک واتمن به عنوان محلول پایه در نظر گرفته شد (با شماره ثبت اختراع ۱۰۰۷۳۷ در سازمان ثبت اسناد و املاک کشور) و سپس با استفاده از آب مقطر در غلظت‌های مورد نظر رقیق و جهت اعمال تیمارها به کار برده شد. سه روز پس از اعمال آخرین تیمار در هر چین، اقدام به ثبت تمامی صفات مورد مطالعه یا نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی شد. سنجش تمامی صفات مورد مطالعه روی آخرین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته گیاه انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای رنگدانه‌های فتوستتیزی به روش Arnon (۱۹۶۷) در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط دستگاه الایزا (مدل XS2، BioTek, Powerwave) اندازه‌گیری و سپس کمی‌سازی شد. شاخص‌های فلورسانس کلروفیل با دستگاه فلورومتر (PEA: Plant Efficiency Analyser) مدل (Pocket Pea, Hansatech Instruments Ltd.)

اصلی انجام گرفت. سپس با توجه به مقادیر جذب نوری منحنی استاندارد رسم گردید و مقدار این ترکیبات برحسب میلی گرم کربوهیدرات محلول در گرم وزن خشک برگ به دست آمد. اندازه گیری پایداری غشای سلولی به روش Lutts و همکاران (۱۹۹۶) انجام گرفت. هدایت الکتریکی عصاره ها با استفاده از هدایت سنج الکتریکی (مدل ExStik® II, EC500) اندازه گیری شد. در نهایت داده های حاصل پس از بررسی نرمال بودن با نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ آنالیز و با آزمون حداقل تفاوت معنی دار فیشر (LSD) مقایسه میانگین شدند.

### نتایج و بحث

**محتوای رنگدانه های فتوسنتزی و شاخص های فلورسانس کلروفیل:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای کلروفیل a به طور معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول پاشی و چین های برداشت قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین مقدار کلروفیل a (۱/۲۲) میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) بود که تفاوت معنی داری با تیمارهای سیتوکینین، جیبرلیک اسید و دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت. کمترین مقدار کلروفیل a (۰/۸۶) میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شاهد بود که تفاوت معنی داری با تیمارهای اکسین و دودآب ۱:۵۰۰ و ۱:۱۰۰۰ (v/v) نداشت (جدول ۲). مقدار کلروفیل b نیز به طور معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول پاشی و چین های برداشت قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین مقدار کلروفیل b (۰/۹۲) میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) بود که تفاوت معنی داری با دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) و فیتوهورمون های سیتوکینین و جیبرلیک اسید نداشت. کمترین مقدار کلروفیل a (۰/۶۳) میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شاهد بود که آن هم تفاوت معنی داری با دودآب های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰ (v/v) و فیتوهورمون اکسین نداشت (جدول ۲).

مقدار کلروفیل کل به طور معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول پاشی و چین های برداشت قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین محتوای کلروفیل کل (۲/۱۵) میلی گرم بر گرم وزن

میلی گرم پروتئین های محلول بیان شد. سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش Fridovich و Beauchamp (۱۹۷۱) از طریق اندازه گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم و با استفاده طول موج ۵۶۰ نانومتر محاسبه شد. در نهایت سرعت فعالیت این آنزیم به صورت میکرومول  $H_2O_2$  تولید شده در دقیقه (تعداد واحدهای آنزیم) در میلی گرم پروتئین های محلول بیان شد. سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Sinha (۱۹۷۲) و با استفاده از محاسبه کاهش جذب  $H_2O_2$  در طول موج ۵۷۰ نانومتر انجام شد. مقدار  $H_2O_2$  موجود در مخلوط واکنش با استفاده از مفهوم قانون بیر-لامبرت و ضریب خاموشی آنزیم کاتالاز (۰/۰۳۹۴ سانتی متر بر مول) محاسبه شد.

برای سنجش محتوای فنول کل به روش Noreen و Ashraf (۲۰۰۹) از معرف فولین سیکالتو و استاندارد گالیک اسید استفاده شد و مقدار جذب نوری محلول واکنش در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده گردید. جهت رسم منحنی استاندارد محلول گالیک اسید با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه و سپس از این محلول پایه غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر آماده شد و سایر مراحل کار همانند نمونه های اصلی انجام گرفت. در نهایت مقدار کل ترکیبات فنولی نمونه برحسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر محاسبه گردید. محتوای آنتوسیانین ها به روش Nadernejad و همکاران (۲۰۱۳) و با عصاره گیری مواد گیاهی در متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۹۹ به یک) سنجش و جذب نوری آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. کمی سازی این ترکیبات با استفاده از مفهوم قانون بیر-لامبرت و در نظر گرفتن ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ سانتی متر بر مول محاسبه شد.

اندازه گیری محتوای کربوهیدرات های محلول به روش فنل- اسید سولفوریک انجام شد (Sheligi, 1986) و مقدار جذب نوری محلول واکنش در طول موج ۴۸۸ نانومتر خوانده شد. جهت تهیه استانداردها ابتدا محلول های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ پی پی ام گلوکز تهیه شد و سایر مراحل کار همانند نمونه های

جدول ۱- تجزیه واریانس رنگدانه‌های فتوسنتزی و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل برگ ریحان تحت سطوح مختلف محلول‌پاشی و چین‌های برداشت

میانگین مربعات										
منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها	نسبت کلروفیل a به b	نسبت کلروفیل به کاروتنوئیدها	نسبت کارایی	حداکثر کارایی فتوشیمیایی	کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب فتوسیستم II
بلوک	۲	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۲ ns	۰/۰۱ ns	۰/۲۴ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۲ ns	۱۶۰/۷۱ ns	۰/۰۵ ns
محلول‌پاشی	۷	۰/۱۱ **	۰/۰۵ **	۰/۳۲ **	۰/۰۳ ns	۰/۰۶ ns	۰/۰۸ **	۰/۰۰۰۰۲ **	۲۲۱/۴۰ *	۰/۳۳ **
اشتباه a	۱۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۲۵	۰/۱۸	۰/۰۰۰۰۴	۹۵/۲۹	۰/۰۵
چین‌های برداشت	۱	۰/۲۸ **	۷/۲۳ **	۴/۶۴ **	۰/۳۰ **	۴۶/۱۳ **	۱/۸۹ **	۰/۰۰۰۰۵ **	۱۲/۵۲ ns	۰/۸۸ **
محلول‌پاشی × چین‌های برداشت	۷	۰/۰۲ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۱۲ ns	۰/۱۸ ns	۰/۰۰۰۰۹ ns	۲۸/۴۵ ns	۰/۱۱ ns
بلوک × چین‌های برداشت	۲	۰/۱۱ *	۰/۰۴ *	۰/۲۷ **	۰/۰۰۳ ns	۰/۱۳ ns	۰/۱۳ ns	۰/۰۰۰۰۲ *	۱۲۲/۰۳ ns	۰/۳۰ *
اشتباه b	۱۴	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۲۵	۰/۱۸	۰/۰۰۰۰۳	۴۳/۲۳	۰/۰۴
ضریب تغییرات (%)	۱۴/۴۶	۱۳/۸۶	۹/۲۵	۲۷/۹۶	۱۵/۰۴	۱۸/۹۶	۰/۷۵	۱۸/۶۰	۴/۲۸	۴/۲۸

ns و \*\* به ترتیب معنی داری در سطح یک، پنج درصد و عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

جدول ۲- مقایسه میانگین رنگدانه‌های فتوسنتزی و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل برگ ریحان تحت سطوح مختلف محلول‌پاشی و چین‌های برداشت

تیمارها	سطوح تیمارها	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a به b	نسبت کلروفیل	حداکثر کارایی فتوشیمیایی	کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب فتوسیستم II
شاهد		۰/۸۶ c	۰/۶۳ b	۱/۴۹ d	-	-	۰/۸۲۲ c	۴/۶۴ c
دودآب ۱:۵۰۰۰ (v/v)		۰/۸۹ c	۰/۷۶ ab	۱/۶۶ cd	-	-	۰/۸۳۶ ab	۵/۱۱ ab
دودآب ۱:۱۰۰۰ (v/v)		۰/۹۲ bc	۰/۷۵ ab	۱/۶۷ cd	-	-	۰/۸۳۹ ab	۵/۲۵ ab
دودآب ۱:۵۰۰ (v/v)		۱/۱۵ a	۰/۸۶ a	۲/۰۱ ab	-	-	۰/۸۴۳ a	۵/۳۹ a
دودآب ۱:۱۰۰ (v/v)		۱/۲۲ a	۰/۹۲ a	۲/۱۵ a	-	-	۰/۸۳۸ ab	۵/۲۱ ab
سیتوکینین		۱/۱۴ a	۰/۹۰ a	۲/۰۷ ab	-	-	۰/۸۴۲ a	۵/۳۴ a
جیبرلیک اسید		۱/۱۰ ab	۰/۸۷ a	۱/۹۷ ab	-	-	۰/۸۳۲ b	۴/۹۹ b
اکسین		۱/۰۳ abc	۰/۷۹ ab	۱/۸۳ bc	-	-	۰/۸۳۷ ab	۵/۱۶ ab
LSD		۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۲۹	-	-	۰/۰۰۸	۰/۳۰
چین‌های اول		۰/۹۷ b	۱/۲۰ a	۲/۱۷ a	۰/۹۱ a	۰/۸۱ b	۰/۸۳۳ b	۵/۰۰ b
برداشت دوم		۱/۱۲ a	۰/۴۲ b	۱/۵۵ b	۰/۷۵ b	۲/۷۷ a	۰/۸۴۰ a	۵/۲۷ a
LSD		۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۳۱	۰/۰۰۳	۰/۱۳

میانگین‌های هر ستون دارای حروف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند.

تر برگ) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) بود که تفاوت معنی‌داری با دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) و بعد از آن با تیمار سیتوکینین نداشت و کمترین محتوای کلروفیل کل (۱/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شاهد بود

اتیوپلاست به کلروپلاست، افزایش بیوستتزر کلروفیل و کاهش تجزیه آن در گیاهان دارند (Taiz and Zeiger, 2012). بیان بسیاری از ژن‌های هسته‌ای و کلروپلاستی علاوه بر نور، وابسته به سیتوکینین است (Yaronskaya et al., 2006). افزایش سنتز پیش‌ماده تترا پیرول یعنی ۵- آمینولولولینیک اسید (5-Aminolevulinic acid) یکی از اولین پاسخ‌های گیاه تحت تیمار فیتوهورمون‌ها و نور است (Lew and Tsuji, 1982). سیتوکینین موجب افزایش سطح mRNA کدکننده آنزیم NADPH-پروتوکلروفیلید اکسیدوردوکتاز (NADPH- protochlorophyllide oxidoreductase) و افزایش سطح این آنزیم شد (Kuroda et al., 2001). این فیتوهورمون فعالیت آنزیم‌های منیزیم پروتوپورفیرین IX کلاتاز (Mg protoporphyrin IX chelatase) و منیزیم پروتوپورفیرین IX متیل ترانسفراز (Mg protoporphyrin IX methyltransferase) را تحریک کرد که این نیز به نوبه خود موجب افزایش بیوستتزر کلروفیل شد (Yaronskaya et al., 2006). در مطالعه Costa و همکاران (۲۰۰۵) نیز محلول‌پاشی گیاهان با سیتوکینین موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کلروفیل همچون کلروفیلاز (Chlorophyllase) و منیزیم کلاتاز (Mg chelatase) در مقایسه با گیاهان شاهد شد.

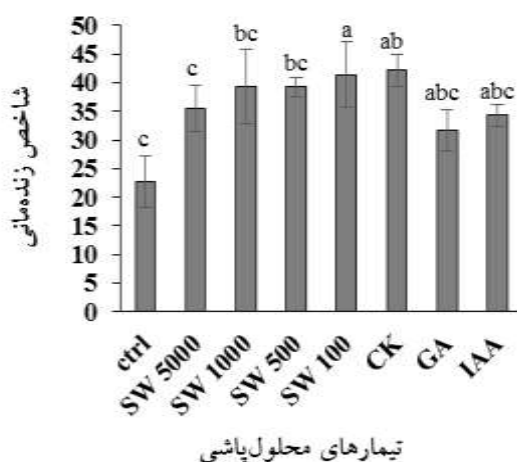
سازوکار افزایش مقدار رنگدانه‌های فتوستتزی تحت تیمار دود هنوز مشخص نیست ولی با توجه به نقش شبه فیتوهورمونی دود از فیتوهورمون‌ها، احتمال می‌رود که دود و ترکیبات بیواکتیو آن نیز همانند سیتوکینین‌ها، موجب تحریک بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوستتزر کلروفیل یا بازداری از ژن‌هایی که آنزیم‌های تخریب‌گر کلروفیل را کد می‌کنند، تجمع کلروفیل در برگ‌ها را افزایش می‌دهند. این نتایج با گزارش Ghebrehiwot و همکاران (۲۰۱۳) که بیان کردند دود در تمامی شکل‌های کاربردی مانند دود آئروسول، دودآب و همچنین کاریکینولید ایزوله‌شده از آن موجب افزایش سطح کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل شد، مطابقت دارد.

مشاهده شد که تیمارهای دود و کاریکینولید موجب کاهش نسبت کلروفیل a به کلروفیل b شدند (Ghebrehiwot et al., )

(جدول ۲). نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی و چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئیدها (۲/۷۳) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و کمترین مقدار آن (۱/۶۱) مربوط به تیمار شاهد بود. افزایش این نسبت در دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) تفاوت معنی‌داری با تیمارهای سیتوکینین، جیبرلیک اسید و دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت.

حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی و چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین مقدار این صفت (۰/۸۴) مربوط به دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) و کمترین مقدار آن (۰/۸۲) مربوط به تیمار شاهد بود. حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) تفاوت معنی‌داری با سیتوکینین، اکسین، دودآب‌های ۱:۱۰۰، ۱:۱۰۰۰ و ۱:۱۰۰۰ (v/v) نداشت (جدول ۲). شاخص زنده‌مانی به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین شاخص زنده‌مانی (۴۰/۱۴) مربوط به تیمار سیتوکینین بود که اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح محلول‌پاشی نداشت. کمترین شاخص زنده‌مانی (۲۲/۷۴) نیز مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۱). کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب فتوسیستم II به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی و چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب فتوسیستم II (۵/۳۹۵) مربوط به دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) و کمترین مقدار آن (۴/۶۴۶) مربوط به تیمار شاهد بود. افزایش مقدار این صفت تحت دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) تفاوت معنی‌داری با سیتوکینین و دودآب‌های ۱:۱۰۰ و ۱:۱۰۰۰ (v/v) نداشت (جدول ۲).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کاربرد دودآب خصوصاً در غلظت‌های ۱:۱۰۰ (v/v) و سیتوکینین موجب افزایش قابل‌توجه در محتوای کلروفیل برگ شد. در میان فیتوهورمون‌ها، سیتوکینین‌ها نقش حیاتی در جهت تبدیل



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی بر شاخص زنده‌مانی ریحان

فیتوهورمون‌های استفاده شده نیز نتیجه بینایی در مقدار ترکیبات کاروتنوئیدی ایفا کردند. دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) نسبت بیشتری از کلروفیل کل به کاروتنوئید را در مقایسه با شاهد نشان داد. این نسبت تفاوت معنی‌داری با سیتوکینین و دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت. گزارشات پیشین نیز نشان داده است که تیمار دود و ترکیبات بیواکتیو آن نسبت کلروفیل به کاروتنوئید بالاتری در مقایسه با شاهد موجب شده‌اند، این نتیجه می‌تواند بخشی از عملکرد بالاتر محصولات تیمار شده با دود را توجیه کند (نوروزی شهری و همکاران، ۱۳۹۹؛ Ghebrehiwot *et al.*, 2013).

مقدار فلورسانس کلروفیل، تمامیت غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I را نشان می‌دهد (Bilger and Bjorkman, 1994). در مطالعه حاضر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، شاخص زنده‌مانی و کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب فتوسیستم II به‌طور معنی‌داری از سطوح مختلف محلول‌پاشی متأثر شدند. احتمالاً سطوح مختلف محلول‌پاشی به‌ویژه سیتوکینین و دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) با اثرات مطلوبی که بر تثبیت کربن می‌گذارند، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را افزایش داده، در نتیجه سیستم دیرتر به Fm می‌رسد که نتیجه آن افزایش فلورسانس متغیر (Fv) و متعاقباً افزایش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II خواهد بود. شاخص Fv/Fm نشان‌دهنده حداکثر راندمان کوانتومی فتوسیستم II در شرایطی است که تمام مراکز واکنش فتوسیستم II باز باشند

(2013). کاهش این نسبت در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد ولی مقدار آن تحت سطوح محلول‌پاشی از نظر آماری معنی‌دار نبود. این نسبت تحت تأثیر معنی‌دار چین‌های برداشت قرار گرفت. احتمال می‌رود که این تأثیر ناشی از متفاوت بودن فصل برداشت در دو چین و تغییر شدت و مدت زمان دریافت تشعشع فتوستتزی باشد. چرا که Ghebrehiwot و همکاران (۲۰۱۳) نیز عنوان نمودند که کاهش در نسبت کلروفیل a به b می‌تواند به اثرات نور/سایه نسبت داده شود. گیاهانی که تحت سایه قرار می‌گیرند نسبت کلروفیل a به b کمتری در مقایسه با گیاهانی که در نور قرار می‌گیرند، نشان می‌دهند و در نتیجه کمپلکس دریافت‌کننده نور II بیشتری نسبت به گیاهان تحت سایه یا گیاهان سایه‌پسند دارند (Ghebrehiwot *et al.*, 2013). کاهش در نسبت کلروفیل a به b می‌تواند یک پاسخ سازگاری توسط گیاهان برای مقابله با اثر تغییر در پروتئین‌های رنگدانه ناشی از شرایط مختلف محیط باشد (Chow *et al.*, 1990). در این مطالعه نیز ممکن است کاهش نسبت کلروفیل a به b از طرفی در نتیجه افزایش رشد شاخساره تحت سطوح محلول‌پاشی و افزایش سایه‌اندازی و از طرفی دیگر تغییر شدت و مدت دریافت تشعشع فتوستتزی توسط گیاهان در چین‌های مختلف باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که دودآب‌های با غلظت بیشتر موجب کاهش محتوای کاروتنوئیدی شدند که با نتایج Ghebrehiwot و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

ثانیه) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و کمترین آن (۰/۹۳) میلی مول آب بر متر مربع در ثانیه) مربوط به تیمار شاهد بود. سرعت تعرق در تیمار شاهد تفاوت معنی داری با اکسین و دودآب‌های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت (شکل ۲-a).

غلظت دی‌اکسید کربن اتاقک زیر روزنه تنها تحت تأثیر معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۳). سطوح محلول‌پاشی و چین‌های برداشت به‌طور معنی داری (به ترتیب  $P \leq 0.05$  و  $P \leq 0.01$ ) دمای برگ را متأثر نمودند (جدول ۳). تیمار اکسین بیشترین دمای برگ (۲۹/۱۸) درجه سانتی‌گراد) و تیمار شاهد کمترین دما (۲۸/۶۶) درجه سانتی‌گراد) را داشت. دمای برگ در تیمار اکسین تفاوت معنی داری با جیبرلیک اسید، سیتوکینین و دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و در تیمار شاهد تفاوت معنی داری با دودآب‌های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت (جدول ۴).

هدایت روزنه‌ای به‌طور معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین هدایت روزنه‌ای (۰/۰۸) مول بر متر مربع در ثانیه) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و کمترین مقدار آن (۰/۰۴) مول در متر مربع در ثانیه) مربوط به تیمار شاهد بود. مقدار افزایش هدایت روزنه‌ای تحت کاربرد دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) تفاوت معنی داری با فیتوهورمون‌های مورد استفاده نداشت. مقدار آن در تیمار شاهد تفاوت معنی داری با دودآب‌های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت (شکل ۲-b).

معنی دار بودن ( $P \leq 0.01$ ) هدایت مزوفیلی تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی مورد تأیید قرار گرفت (جدول ۳). بر این اساس دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) دارای بیشترین (۳۰/۶۹) میلی‌مول دی‌اکسید کربن در متر مربع در ثانیه) و تیمار شاهد دارای کمترین (۱۵/۹۵) میلی‌مول دی‌اکسید کربن در متر مربع در ثانیه) مقدار هدایت مزوفیلی بود. مقدار افزایش این صفت تحت کاربرد دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) تفاوت معنی داری با فیتوهورمون‌های مورد استفاده نداشت (شکل ۲-c). کارایی مصرف آب فتوسنتزی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی و

(Maxwell and Johnson, 2000) و استفاده از محلول‌های فیتوهورمونی و شبه فیتوهورمونی موجب افزایش این شاخص نسبت به شاهد شد.

سیتوکینین و احتمالاً مواد شبه سیتوکینین مانند دودآب در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های منیزیم پرتوپورفیرین IX کلاتاز و منیزیم پرتوپورفیرین IX متیل ترانسفراز را تحریک می‌کنند که این نیز به‌نوبه خود موجب افزایش بیوستز کلروفیل و در نهایت موجب افزایش شاخص Fv/Fm و افزایش نرخ جذب دی‌اکسید کربن می‌شود (Yaronskaya et al., 2006). کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب فتوسیستم II اصولاً حساس‌ترین جز زنجیره انتقال الکترون به شرایط تنش است (Kalaji et al., 2011). از آنجا که در این مطالعه تنش وجود نداشته، بنابراین ممکن است افزایش این کارایی و به عبارتی دیگر افزایش نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس کمینه ناشی از افزایش جذب آب و بهبود هر چه بیشتر فرآیند انتقال الکترون در فتوستز باشد (Pereira et al., 2000).

شاخص بقای گیاه ( $PI_{abs}$ ) نشان‌دهنده عملکرد هر دو فتوسیستم I و II است (Strasser et al., 2000). این پارامتر شامل سه پارامتر مستقل: ۱: تراکم مراکز واکنش کاملاً فعال، ۲: کارایی حرکت الکترون توسط اکسایتون (ذره‌ای کوانتومی از انرژی) به دام افتاده در زنجیره انتقال الکترون آن سوی کوئینون A و ۳: احتمال به دام افتادن فوتون جذب‌شده توسط مراکز واکنش، است. احتمالاً سطوح مختلف محلول‌پاشی توانسته‌اند حداقل یکی از این پارامترها را بهبود ببخشند. مثلاً افزایش محتوای کلروفیلی تحت تأثیر فیتوهورمون‌ها و دودآب، مقدار مراکز واکنش را افزایش داده و احتمال به دام افتادن فوتون را افزایش می‌بخشد.

**سرعت فتوستز و پارامترهای تبادل گازی:** تجزیه واریانس پارامترهای فتوستزی نشان داد که سرعت فتوستز تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی و چین‌های برداشت قرار نگرفت (جدول ۳). سرعت تعرق به‌طور معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین سرعت تعرق (۲/۶۵) میلی‌مول آب بر متر مربع در

جدول ۳- تجزیه واریانس پارامترهای فتوسنتزی برگ و ترکیبات فنولیک برگ ریحان تحت سطوح مختلف محلول پاشی و چین‌های برداشت

میانگین مربعات										
منابع تغییر	درجه آزادی	سرعت فتوسنتز	سرعت تعرق	غلظت دی‌اکسید کربن	دمای برگ	هدایت روزنه‌ای	هدایت مزوفیلی	مصرف آب فنول کل	آنتوسیانین‌ها	کارایی فتوسنتزی
بلوک	۲	۱/۰۰ ns	۱/۰۷*	۴۷۵۴ ns	۳/۹۴**	۰/۰۰۱*	۰/۲۷ ns	۲۴۸۷ ns	۰/۰۰۶ ns	۲/۸۹ ns
محلول پاشی	۷	۳/۱۹ ns	۱/۹۳**	۵۵۷۴ ns	۰/۲۰*	۰/۰۰۰۸*	۱۶۸/۲۵**	۱۴۴۴ ns	۰/۰۳*	۸/۰۶*
اشتباه a	۱۴	۱/۳۹	۰/۱۶	۳۲۶۶	۰/۰۴	۰/۰۰۰۲	۵۳/۳۸ ns	۲۱۲۵	۰/۰۰۹	۳/۳۷
چین‌های برداشت	۱	۳/۷۸ ns	۰/۱۴ ns	۲۵۱۵**	۴۷۳**	۰/۰۰۰۹ ns	۱۰۰/۳۲ ns	۱۴۰۸۴ ns	۰/۰۹**	۲/۲۷**
محلول پاشی × چین‌های برداشت	۷	۱/۵۹ ns	۰/۱۸ ns	۲۲۵۱ ns	۰/۰۸ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۸۰/۸۶ ns	۲۵۰۴ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۳۲ ns
بلوک × چین‌های برداشت	۲	۱/۶۱ ns	۰/۲۳ ns	۹۳۴ ns	۴/۴۲**	۰/۰۰۰۶ ns	۴/۹۹ ns	۶۳۳۳ ns	۰/۰۱ ns	۰/۱۱ ns
اشتباه b	۱۴	۱/۱۶	۰/۱۰	۱۲۵۷	۰/۰۶	۰/۰۰۰۲	۳۰/۶۸	۳۵۸۰	۰/۰۰۶	۰/۱۷
ضرب تغییرات (%)		۲۰/۹۶	۲۰/۶۱	۱۴/۸۵	۰/۸۵	۲۸/۱۶	۲۴/۰۶	۶۱/۶۵	۱۳/۰۰	۴/۷۶

ns و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح یک، پنج درصد و عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.

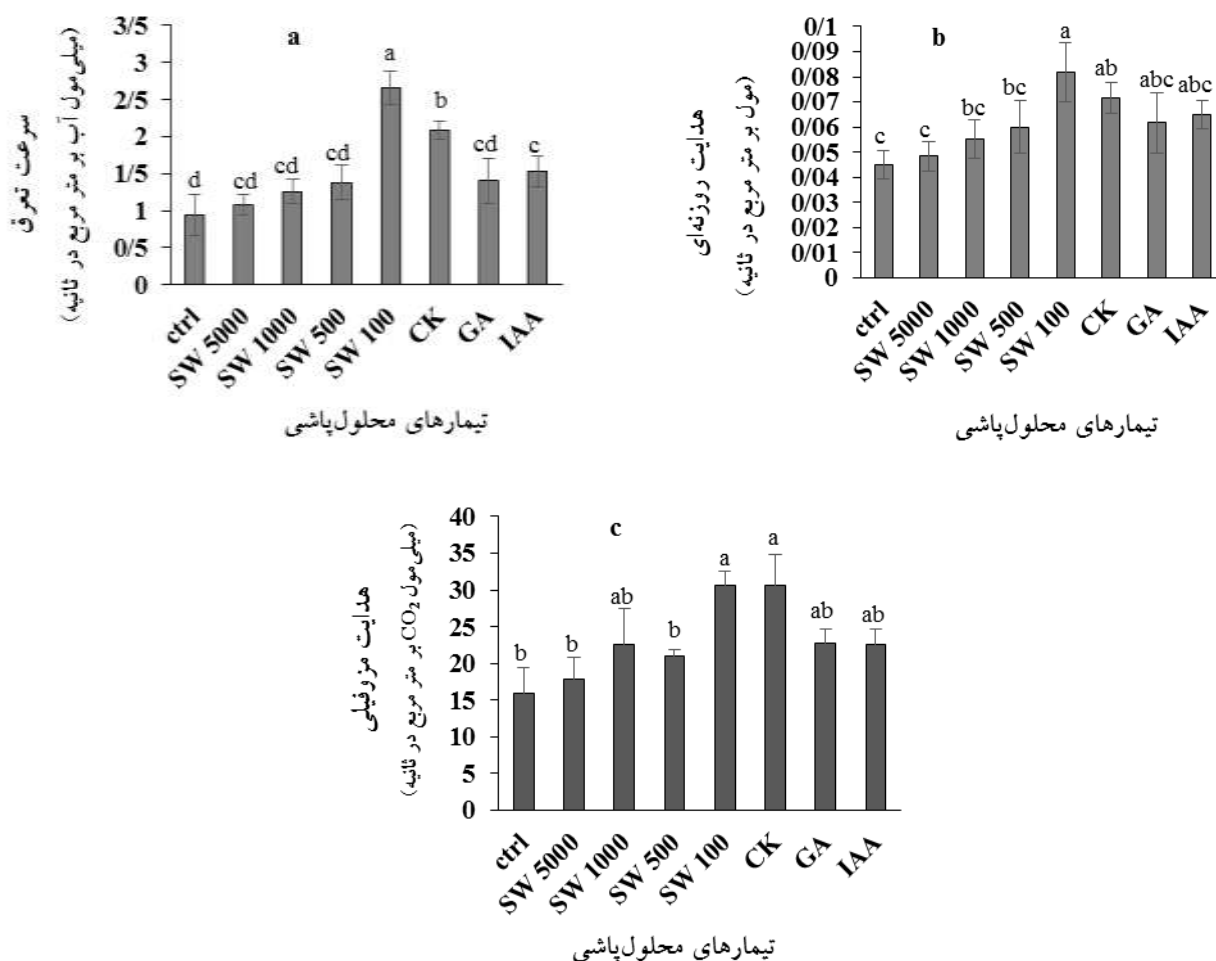
جدول ۴- مقایسه میانگین پارامترهای فتوسنتزی برگ و ترکیبات فنولیک برگ ریحان تحت سطوح مختلف محلول پاشی و چین‌های برداشت

تیمارها	سطوح تیمارها	غلظت دی‌اکسید کربن (میلی‌مول)	دمای برگ (درجه سانتی‌گراد)	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر برگ)	آنتوسیانین‌ها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)
شاهد		-	۲۸/۶۶ d	۰/۴۹ d	۷/۰۷ c
دودآب ۱:۵۰۰۰ (v/v)		-	۲۸/۷۸ cd	۰/۶۲ abc	۸/۱۳ bc
دودآب ۱:۱۰۰۰ (v/v)		-	۲۸/۸۱ cd	۰/۵۸ cd	۸/۳۹ bc
دودآب ۱:۵۰۰ (v/v)		-	۲۸/۹۱ bcd	۰/۶۵ abc	۹/۶۷ ab
دودآب ۱:۱۰۰ (v/v)		-	۲۹/۰۲ abc	۰/۷۲ a	۱۰/۹۵ a
سیتوکینین		-	۲۹/۱۰ ab	۰/۵۸ bcd	۸/۲۷ bc
جیبرلیک اسید		-	۲۹/۱۱ ab	۰/۶۳ abc	۸/۹۸ abc
اکسین		-	۲۹/۱۸ a	۰/۷۰ ab	۸/۳۴ bc
LSD		-	۰/۲۵	۰/۱۲	۲/۲۷
چین‌های برداشت	اول	۲۶۱/۸۸ a	۲۵/۸۰ b	۰/۶۷ a	۸/۵۰ b
دوم		۲۱۵/۵۸ b	۳۲/۰۹ a	۰/۵۸ b	۸/۹۴ a
LSD		۲۱/۹۵	۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۲۵

میانگین‌های هر ستون دارای حروف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

چین‌های برداشت قرار نگرفت (جدول ۳). رشد بر کارایی دستگاه فتوسنتزی، افزایش فعالیت آنزیم‌های

گزارش‌های متعددی تأکید کرده‌اند که فیتوهورمون‌های فتوسنتزی و در نتیجه تحریک توسعه گیاهان در معرض نور



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی بر صفات بیوشیمیایی ریحان. a: سرعت تعرق، b: هدایت روزنه‌ای، c: هدایت مزوفیلی

و مزوفیلی است. در مطالعه حاضر سرعت فتوسنتز همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) با هدایت مزوفیلی داشت (جدول ۷).

در مطالعه Gilbert و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده شد که سرعت اسمیلاسیون، هدایت روزنه‌ای و غلظت دی‌اکسید کربن در گیاهان *Chrysanthemoides monilifera* تحت تیمار یک دقیقه دود آئروسول تا ۳۰۰ دقیقه پس از اعمال تیمار به‌طور متوسط در مقایسه با گیاهان شاهد به ترتیب ۶۶/۰، ۸۰/۴ و ۲۵/۱ درصد کاهش یافت. کاهش اسمیلاسیون در این مطالعه ابتدا به خاطر بالا رفتن دمای برگ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد تحت تیمار دود آئروسول و متعاقب با آن کاهش فعالیت روبیسکوی حساس به دما بود. علاوه بر این مقادیر بالای غلظت دی‌اکسید

نقش دارد (Afroz et al., 2006; Kraepiel and Miginiac, 1997). کاربرد خارجی سیتوکینین موجب افزایش تثبیت دی‌اکسید کربن فتوسنتزی می‌شود (Gupta et al., 2000). سیتوکینین‌ها در تمایز کلروپلاست‌ها نقش دارند و موجب سنتز کلروفیل و آنزیم‌های فتوسنتزی می‌شوند (Taiz and Zeiger, 2012). علاوه بر این فیتوهورمون‌ها در تحریک فعالیت کامبیومی، تشکیل بافت‌های آوندی و بهبود تأمین آب برای بافت‌های فتوسنتزی نیز نقش دارند (Aldesuquy, 2000). در این مطالعه مشاهده شد که گیاهان تحت تیمار دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و پس از آن گیاهان تحت تیمار فیتوهورمون‌ها به‌ویژه سیتوکینین دارای بیشترین هدایت روزنه‌ای و هدایت مزوفیلی بودند. سرعت اسمیلاسیون در گیاهان وابسته به اثرات روزنه‌ای

افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنولیک هستند (Aremu et al., 2012a). دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و پس از آن فیتوهورمون اکسین موجب تولید بالاترین سطح ترکیبات فنولیک در برگ شدند. ترکیبات فنولی گروه عمده‌ای از ترکیبات شیمیایی گیاهی حاصل از مسیر فنیل پروپانوئید و دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد هستند. در قسمت‌های مختلف سلول گیاهی و در مراحل مختلف رشد گیاه تشکیل می‌شوند (Ewane et al., 2012).

تأثیر کاربرد اکسین و سیتوکینین بر محتوای ترکیبات فنولیک گیاه لوبیا چشم بلبلی مشاهده شد (Vats et al., 2012). در مطالعات متعددی بیان شده است که فیتوهورمون‌های اکسین، سیتوکینین و جیبرلیک اسید موجب افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز می‌شوند که آنزیمی کلیدی در پیشبرد مسیر فنیل پروپانوئید است. مشاهده شده است که ارتباط مهمی بین میزان فعالیت این آنزیم و تجمع محتوای فنلی و فلاوونوئیدی گیاهان وجود دارد (Malmir, 2014). در مطالعه حاضر نیز فیتوهورمون‌های مذکور با افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیرهای ثانویه متابولیسم کربن موجب افزایش ترکیبات فنولی شدند و متعاقباً دودآب‌های ۱:۱۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) نیز مشابه با فیتوهورمون‌ها عمل نمودند (نتایج منتشر نشده است). افزایش تجمع ترکیبات فنولیک در اثر کاربرد دودآب در این مطالعه با پژوهش‌های پیشین مطابقت دارد (Aremu et al., 2012a; Soos et al., 2010).

آنتوسیانین‌ها گروهی از رنگدانه‌های فلاوونوئیدی و زیر مجموعه از ترکیبات فنولیک گیاه و مسئول رنگ‌های صورتی، قرمز، آبی و بنفش در بافت‌های مختلف گیاهی (گل‌ها، میوه‌ها، برگ‌ها و ...) هستند (Davies et al., 2012). محتوای آنتوسیانینی به‌طور معنی‌داری تحت کاربرد دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) افزایش یافت. افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها ناشی از افزایش بیان ژن کدکننده آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز تحت تیمار دودآب بود. همچنین رنگ بنفش از ویژگی‌های شاخص در برگ‌های ریحان مورد مطالعه در این آزمایش بود. دودآب و پس از آن فیتوهورمون‌های اکسین و جیبرلیک اسید که تفاوت

کربن در دود آئروسول موجب بروز پاسخ‌های فیزیولوژیک در گیاه از جمله بسته‌شدن روزنه‌ها می‌شود که می‌تواند اثری غیر مستقیم در کاهش فتوسنتز داشته باشد (Gilbert et al., 2002). در این مطالعه احتمالاً جایگزینی دودآب به‌جای دود آئروسول مشکلات مذکور را مرتفع و ترکیبات بیواکتیو دود توانستند اثرات شبه فیتوهورمونی خود را در رابطه با افزایش هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی و متعاقباً افزایش آسمیلاسیون بروز دهند.

دمای برگ در چین‌های مختلف و تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. لیکن مشاهده شد که این تغییرات در محدوده اپتیمم اکولوژیک رشد هر دو گیاه است و اثری بر محتوا و فعالیت آنزیم‌های آن‌ها نداشت. تغییرات دمای برگ تحت تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی نیز ممکن است اثری غیرمستقیم حاصل از معنی‌دار شدن شاخص ویژه سطح برگ در این گیاه باشد. به‌طوری‌که مشاهده شد برگ‌هایی که شاخص ویژه سطح برگ کمتری داشتند، دارای دمای برگ بیشتری بودند (داده‌ها نشان داده نشده است).

#### محتوای فنول کل و آنتوسیانین‌ها: محتوای فنول کل برگ

در تجزیه واریانس صفات به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی و چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین مقدار فنول کل (۰/۷۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر برگ) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و کمترین آن (۰/۴۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر برگ) مربوط به شاهد بود. افزایش مقدار فنول کل تحت دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) تفاوت معنی‌داری با جیبرلیک اسید، اکسین و دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت (جدول ۴). محتوای آنتوسیانین‌های برگ به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی و چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین مقدار آنتوسیانین در برگ (۱۰/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و کمترین آن (۷/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شاهد بود. این افزایش اختلاف معنی‌داری با دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) نداشت (جدول ۴).

دودآب و آگروکیمیکال‌های موجود در آن دارای پتانسیل

فیدبک منفی برای فتوسنتز ایجاد کند (Farrar *et al.*, 2000). بنابراین تجمع کربوهیدرات‌های محلول در اندام‌های هوایی موجب مختل شدن فتوسنتز شده و تولید را کاهش می‌دهد (McCue and Hanson, 1990). مصرف دودآب و سیتوکینین موجب افزایش رشد، افزایش انتقال ساکارز از برگ‌ها به سوی مخازن، کاهش مقدار ساکارز درون سلول‌های منبع و کاهش کربوهیدرات‌های محلول این تیمارها نسبت به شاهد می‌شود (Oliveira Neto *et al.*, 2009). این مطالعات می‌تواند بهبود عملکرد ریحان ناشی از کاربرد غلظت‌های مختلف دودآب و فیتوهورمون‌ها را توجیه کند (نوروزی شهری و همکاران، ۱۳۹۹).

کاربرد دود آئروسول در زمان‌های کم موجب کاهش محتوای کربوهیدرات‌های محلول و در زمان‌های طولانی‌تر موجب افزایش آن شد. قرارگرفتن گیاهان در معرض دود در زمان‌های بالا موجب افزایش کربوهیدرات‌های محلول، کاهش جذب یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم و افزایش پتانسیل اسمزی و پتانسیل آب می‌شود (Iqbal *et al.*, 2018). در این مطالعه غلظت‌های بالای دودآب نیز محتوای کربوهیدرات‌های محلول را کاهش دادند. همچنین مشاهده شد که بین محتوای کربوهیدرات‌های محلول با عملکرد زیست‌توده و عملکرد اسانس همبستگی منفی معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) وجود دارد (داده‌ها نشان داده نشده است).

#### محتوای پروتئین‌های محلول و سرعت فعالیت آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدان: محتوای پروتئین‌های محلول این گیاه تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی قرار نگرفت ولی به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) در دو چین متوالی گیاه متفاوت بود (جدول ۵ و ۶). سطوح محلول‌پاشی اثر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت. سرعت فعالیت این آنزیم در دو چین به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) متفاوت بود (جدول ۵). بیشترین سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز ( $14/92$ ) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول) مربوط به دودآب  $1:100$  ( $v/v$ ) بود که تفاوت معنی‌داری با فیتوهورمون‌های جیبرلیک اسید و اکسین نداشت. کمترین مقدار سرعت فعالیت آن ( $9/53$ ) واحد

معنی‌داری در افزایش این رنگدانه با آن ندارند، موجب تشدید فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی این رنگدانه‌ها از جمله آنتوسیانین‌ها شده‌اند.

#### محتوای کربوهیدرات‌های محلول: سطوح محلول‌پاشی و

چین‌های برداشت به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) محتوای کربوهیدرات‌های محلول برگ تحت تأثیر قرار داد (جدول ۵). تیمار شاهد دارای بیشترین ( $348/38$  میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) و تیمار دودآب  $1:500$  ( $v/v$ ) دارای کمترین ( $258/98$  میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) مقدار کربوهیدرات‌های محلول برگ بود. کاهش محتوای کربوهیدرات‌های محلول برگ تحت دودآب  $1:500$  ( $v/v$ ) تفاوت معنی‌داری با سیتوکینین نداشت (جدول ۶).

بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول در این مطالعه مربوط به تیمار شاهد بود. در حالیکه استفاده از سطوح محلول‌پاشی موجب کاهش مقدار این ترکیبات در برگ‌ها شده بود. مطالعات مختلفی نقش متفاوت فیتوهورمون‌ها در مقدار کربوهیدرات‌های محلول گیاهان را نشان می‌دهند. کربوهیدرات‌های محلول نقشی ضروری در متابولیسم گیاه دارند، این ترکیبات محصول فرآیندهای هیدرولیتیک هستند و به‌عنوان یک سوستر در فرآیندهای بیوسنتز، تولید انرژی و همچنین در ارسال قندها و سیستم سیگنال‌دهی (Gibson, 2005) و در تنظیم قدرت مخزن، تخصیص آسمیلات‌های فتوسنتزی و تخلیه فلوئم نقش دارند (Roitsch and EhneB, 2000). فیتوهورمون‌ها خصوصاً اکسین و سیتوکینین موجب تنظیم قدرت مخزن به‌واسطه تقسیم و بزرگ‌شدن سلول‌های آندوسپرمی یا به‌وسیله کنترل انتقال آسمیلات‌ها به مخزن می‌شوند (Hansen and Grossmann, 2000). کاربرد اکسین کنتین موجب کاهش کربوهیدرات‌های محلول و افزایش نشاسته در مقایسه با شاهد می‌شود (Javid *et al.*, 2011).

ساکارز محصول عمده فتوسنتز و شکل اصلی انتقالی کربن و سوسترای اصلی متابولیسم مخزن است. اکسین و سیتوکینین نقش مهمی را در افزایش ساکارز برگ‌ها در پاسخ به تقاضای مخزن برای ساکارز ایفا می‌کنند. ساکارز اضافه نیز می‌تواند

جدول ۵- تجزیه واریانس برخی از پارامترهای بیوشیمیایی برگ ریحان تحت سطوح مختلف محلول پاشی و چین‌های برداشت

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییر
نشت	سرعت فعالیت کاتالاز	سرعت فعالیت سوپراکسید دیسموتاز	سرعت فعالیت پراکسیداز	پروتئین‌های محلول برگ	کربوهیدرات‌های محلول		
۱۴۲/۸۲ <sup>ns</sup>	۱۵۰۹۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۳۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۷ <sup>ns</sup>	۵۰۹/۳۷ <sup>ns</sup>	۲	بلوک
۵۵۹/۴۶ <sup>**</sup>	۱۵۶۵۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۵ <sup>ns</sup>	۲۳/۳۱ <sup>*</sup>	۰/۴۸ <sup>ns</sup>	۶۰۳۸/۹۰ <sup>**</sup>	۷	محلول پاشی
۵۸/۷۳	۶۱۲۴۹	۰/۰۱	۸/۶۶	۰/۵۸	۹۳۲/۴۶	۱۴	اشتباه a
۱۵۳/۱۸ <sup>ns</sup>	۵۰۳۵۷۷ <sup>**</sup>	۰/۱۴ <sup>*</sup>	۱۲۷/۴۲ <sup>**</sup>	۸/۴۱ <sup>**</sup>	۹۰۹۷/۱۲ <sup>*</sup>	۱	چین‌های برداشت
۴۸/۸۴ <sup>ns</sup>	۱۱۴۵۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۹ <sup>ns</sup>	۲۲/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۲۶ <sup>ns</sup>	۲۰۹۵/۲۳ <sup>ns</sup>	۷	محلول پاشی × چین‌های برداشت
۵۳۹/۷۸ <sup>ns</sup>	۲۱۶۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>	۶/۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۱۶۷/۱۸ <sup>ns</sup>	۲	بلوک × چین‌های برداشت
۱۹۹/۸۸	۳۳۰۶۴	۰/۰۲	۸/۳۷	۰/۴۱	۱۳۳۵/۱۱	۱۴	اشتباه b
۲۲/۵۹	۱۸/۴۶	۳۱/۵۱	۲۶/۱۵	۱۶/۴۵	۱۱/۵۶		ضریب تغییرات (%)

ns، \*\* و \* به ترتیب معنی داری در سطح یک، پنج درصد و عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

جدول ۶- مقایسه میانگین برخی از پارامترهای بیوشیمیایی برگ ریحان تحت سطوح مختلف محلول پاشی و چین‌های برداشت

تیمارها	سطوح تیمارها	کربوهیدرات‌های محلول (میلی‌گرم بر برگ)	پروتئین‌های محلول برگ (میلی‌گرم بر برگ)	سرعت فعالیت پراکسیداز	سرعت فعالیت سوپراکسید دیسموتاز	سرعت فعالیت کاتالاز
شاهد		۳۴۸/۳۸ <sup>a</sup>	-	۹/۶۰ <sup>b</sup>	-	-
دودآب ۱:۵۰۰۰ (v/v)		۳۳۶/۸۸ <sup>ab</sup>	-	۹/۶۶ <sup>b</sup>	-	-
دودآب ۱:۱۰۰۰ (v/v)		۳۵۱/۱۷ <sup>a</sup>	-	۹/۵۳ <sup>b</sup>	-	-
دودآب ۱:۵۰۰ (v/v)		۲۵۸/۹۸ <sup>d</sup>	-	۱۰/۴۲ <sup>b</sup>	-	-
دودآب ۱:۱۰۰ (v/v)		۲۸۶/۳۰ <sup>cd</sup>	-	۱۴/۹۲ <sup>a</sup>	-	-
سیتوکینین		۳۰۴/۷۷ <sup>bc</sup>	-	۹/۶۳ <sup>b</sup>	-	-
جیبرلیک اسید		۳۱۶/۷۳ <sup>abc</sup>	-	۱۲/۳۵ <sup>ab</sup>	-	-
اکسین		۳۲۳/۹۹ <sup>abc</sup>	-	۱۲/۴۰ <sup>ab</sup>	-	-
LSD		۳۷/۸۱	-	۳/۶۴	-	-
چین‌های اول		۳۰۲/۱۵ <sup>b</sup>	۴/۳۲ <sup>a</sup>	۹/۴۳ <sup>b</sup>	۰/۴۱ <sup>b</sup>	۸۸۲/۳۸ <sup>b</sup>
برداشت دوم		۳۲۹/۶۵ <sup>a</sup>	۳/۴۸ <sup>b</sup>	۱۲/۶۹	۰/۵۲ <sup>a</sup>	۱۰۸۷/۲۴ <sup>a</sup>
LSD		۲۲/۶۲	۰/۳۹	۱/۷۹	۰/۰۹	۱۱۲/۵۸

میانگین‌های هر ستون دارای حروف مشترک، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول) مربوط به دودآب ۱:۱۰۰۰ (v/v) بود که تفاوت معنی‌داری با سطوح شاهد،

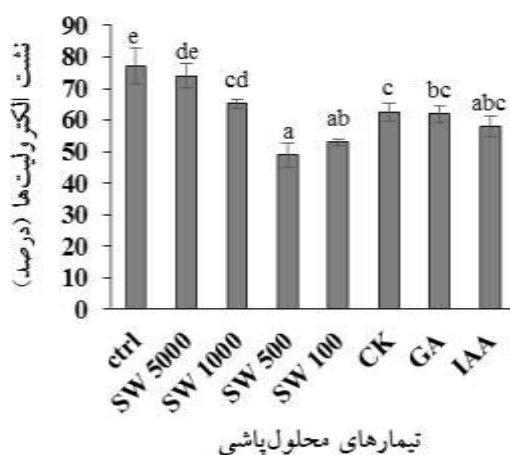
فیزیولوژیک عنوان شده است (Passardi *et al.*, 2005). اثر فیتوهورمون‌ها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به مرحله نموی گیاه نیز بستگی دارد. سیتوکینین در توتون‌های تراریخته ((*Nicotiana tabacum* L. (cv. PetitHavana SR1)) تا ابتدای مرحله گلدهی موجب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد و پس از آن اثر معنی‌داری روی فعالیت این سیستم نداشت، در حالیکه بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهانی که سن بالاتری داشتند، مشاهده شد (Synkova *et al.*, 2006). اصولاً آنزیم‌های اکسیداتیو به‌طور گسترده‌ای در گیاهان عالی وجود دارند، چرا که اکثر بخش‌های سلولی پتانسیل تولید گونه‌های فعال اکسیژنی را دارد. برای مثال آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دارای ایزوآنزیم‌های مختلفی است که شامل SOD-1 در کلروپلاست، SOD-2 و SOD-4 در سیتوزول و SOD-3 در میتوکندری است و با افزایش اکسیژن در این اندامک‌ها تولید می‌شوند (Matters and Scandalios, 1987). قابل استفاده بودن اکسین داخلی گیاه و همچنین قابلیت اثرگذاری کاربرد خارجی اکسین بستگی به سطح فعالیت آنزیم اکسین اکسیداز در آن بافت گیاهی دارد که ممکن است از طریق عمل دو آنزیم اکسیداتیو پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز به‌صورت پنهان بماند (Basak *et al.*, 2000). بنابراین با اعمال سطوح محلول‌پاشی انتظار می‌رود مقدار تحمل گیاه با فعالیت بیشتر آنزیم‌های دفاعی و مقادیر بالاتر آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی، افزایش یابد.

**نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی: نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر سطوح محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۵). بیشترین مقدار نشت الکترولیت‌ها (۷۷/۱۹ درصد) مربوط به غشای پلاسمایی سلول‌های برگ گیاهان شاهد و کمترین مقدار آن (۴۸/۹۵ درصد) مربوط به دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) بود. کاهش نشت الکترولیت‌ها تحت تیمار دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) تفاوت معنی‌داری با دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و فیتوهورمون‌های جیبرلیک اسید و اکسین نداشت. مقدار نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی تیمار شاهد نیز از نظر آماری با دودآب‌های ۱:۵۰۰ و ۱:۱۰۰ (v/v) تفاوت نداشت (شکل ۳).**

دودآب‌های ۱:۵۰۰، ۱:۵۰۰ (v/v) و فیتوهورمون‌های مورد استفاده نداشت (جدول ۶). سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به‌طور معنی‌داری (به‌ترتیب  $P \leq 0.05$  و  $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر چین‌های برداشت قرار گرفت (جدول ۵ و ۶).

در این مطالعه مقدار پروتئین‌های محلول تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی قرار نگرفت. بیشترین سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) و پس از آن فیتوهورمون اکسین و بیشترین سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تیمار اکسین و پس از آن از دودآب ۱:۵۰۰ (v/v) حاصل شد. تیمارهای هورمونی موجب افزایش فعالیت سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان برای مهار گونه‌های اکسیژنی فعال می‌شوند (Clarke *et al.*, 2000). احتمالاً افزایش فعالیت سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدان که تحت شرایط تنش نیز نبود وابسته به فتوسنتز و فعالیت متابولیک بالای آن است (Casano *et al.*, 1994). مثلاً سلول‌های اپیدرمی دارای فعالیت پراکسیداز شدیدی هستند که می‌تواند به‌دلیل درگیری آن‌ها در پلیمریزاسیون فنول‌ها باشد (Carpin *et al.*, 1999). علاوه بر این پراکسیدازها در بسیاری از فعالیت‌های متابولیک شامل تشکیل لیگنین دیواره سلولی (Gross, 1981)، کاتابولیسم اکسین (Gazaryan *et al.*, 1996) و ... نقش دارند که ممکن است دلیل افزایش سرعت فعالیت این آنزیم تحت تیمار اکسین و دودآب به‌واسطه فعالیت شبه اکسینی آن (Jain *et al.*, 2008) در این مطالعه باشد.

مطالعه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت کاربرد فیتوهورمون‌ها و دودآب در مطالعات مختلف، نتایج متفاوت و حتی متناقضی را به همراه داشته است. کاربرد تیمارهای دودآب ۱:۵۰۰ (v/v)، کاربیکینولید  $10^{-8}$  مولار و جیبرلیک اسید  $10^{-5}$  مولار روی بذره‌های لویا و ذرت نشان داد که این تیمارها موجب افزایش سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (Sunmonu *et al.*, 2016). دلیل این کاهش نیز وجود تعداد زیاد فرم‌های ایزوآنزیمی پراکسیداز و مداخله این آنزیم در دامنه وسیعی از فعالیت‌های



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی بر نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی سلول‌های برگ ریحان

جدول ۷- همبستگی بین صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در ریحان

	A	gs	Gm	E	Fv/Fm	Chl	POD	SOD	Cat.	Phe.
gs	-۰/۰۵ <sup>ns</sup>									
gm	۰/۶۸ <sup>**</sup>	۰/۲۹ <sup>*</sup>								
E	۰/۶۷ <sup>**</sup>	۰/۰۹ <sup>ns</sup>	۰/۳۵ <sup>*</sup>							
Fv/Fm	۰/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۳۷ <sup>**</sup>	۰/۲۳ <sup>ns</sup>						
Chl	۰/۲۰ <sup>ns</sup>	-۰/۲۲ <sup>ns</sup>	-۰/۲۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۸ <sup>ns</sup>	-۰/۰۵ <sup>ns</sup>					
POD	۰/۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۸ <sup>ns</sup>	۰/۳۶ <sup>*</sup>	۰/۲۰ <sup>ns</sup>	-۰/۱۳ <sup>ns</sup>				
SOD	۰/۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۳۵ <sup>*</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۳۷ <sup>**</sup>			
Cat.	۰/۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۳۰ <sup>*</sup>	۰/۲۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۸ <sup>ns</sup>	-۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۵۱ <sup>**</sup>	۰/۶۳ <sup>**</sup>		
Phe.	۰/۱۰ <sup>ns</sup>	-۰/۰۵ <sup>ns</sup>	-۰/۰۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۴۳ <sup>**</sup>	-۰/۰۸ <sup>ns</sup>	-۰/۱۱ <sup>ns</sup>	-۰/۲۳ <sup>ns</sup>	
EL	-۰/۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	-۰/۰۸ <sup>ns</sup>	-۰/۱۷ <sup>ns</sup>	-۰/۲۲ <sup>ns</sup>	-۰/۳۷ <sup>**</sup>	-۰/۲۸ <sup>ns</sup>	-۰/۳۸ <sup>**</sup>	-۰/۰۵ <sup>ns</sup>	-۰/۳۴ <sup>*</sup>

ns و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح یک، پنج درصد و عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.

A: سرعت فتوسنتز، gs: هدایت روزنه‌ای، gm: هدایت مزوفیلی، E: سرعت تعرق، Fv/Fm: کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، Chl: محتوای کلروفیل کل، POD: سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز، SOD: سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، Cat: سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز، Phe: محتوای فنول کل و EL: درصد نشت الکترولیت‌ها.

نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی شد. همچنین گیاهان شاهد و گیاهانی که با غلظت‌های کم دودآب (۱:۵۰۰۰ و ۱:۱۰۰۰ (v/v)) محلول‌پاشی شدند، دارای مقدار بیشتری نشت الکترولیت در مقایسه با سایر غلظت‌های مورد استفاده بودند. عصاره‌های دود به‌علت وجود بوتنولیدها نقش مهمی همانند فیتوهورمون‌ها ایفا می‌کنند و شاخص پایداری غشا با

در این مطالعه سطوح مختلف تیمار محلول‌پاشی اثر معنی‌داری روی مقدار نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی سلول‌های برگ داشتند. ثبات و یکپارچگی غشاهای گیاهی برای حفظ سیستم‌های گیاهی بسیار مهم است. فیتوهورمون‌ها نقش مهمی در حفظ ثبات غشاها ایفا می‌کنند. کاربرد فیتوهورمون‌ها موجب افزایش یکپارچگی و کاهش نسبی مقدار

فتوستتزی شد. هم‌راستا با این تغییرات مقدار کربوهیدرات‌های محلول در منابع فتوستتزی را کاهش داد. کاهش کربوهیدرات‌های محلول از فیدبک منفی آن‌ها روی سرعت اسمیلاسیون و مختل‌شدن سیستم فتوستتزی جلوگیری کرد. مجموع عوامل مذکور موجب افزایش کارایی سیستم تثبیت کربن در هر دو گیاه شد. در دودآب‌های ۱:۱۰۰ و ۱:۵۰۰ (v/v) بدون اختلاف معنی‌دار با اکسین و سیتوکینین، مقدار ترکیبات فنولیک و برخی از آنتی‌اکسیدانت‌ها افزایش یافت که دارای همبستگی منفی با درصد نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی سلول‌های برگ بود. مجموع این عوامل موجب افزایش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، افزایش کارایی کمپلکس تجزیه‌کننده آب فتوسیستم II و درنهایت افزایش شاخص بقای گیاهان شد. بهبود تمامی ویژگی‌های مذکور که اثرات شبه فیتوهورمونی دود یا برهمکنش ترکیبات آن با فیتوهورمون‌های درون‌زاد گیاه را نشان می‌دهند، موجب افزایش عملکرد گیاه ریحان شد (نوروزی شهری و همکاران، ۱۳۹۹). به‌طورکلی نتایج نشان داد که دودآب به خصوص در غلظت ۱:۱۰۰ (v/v) و ترکیبات بیواکتیو آن با هزینه کمتر و به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد طبیعی و پایدار، جایگزین مناسبی برای تنظیم‌کننده‌های رشد سنتزی بوده و با تقلیل محدودیت‌های بیوشیمیایی، پتانسیل لازم جهت افزایش کمیت و کیفیت گیاه دارویی ریحان را دارند.

کاربرد دودآب افزایش می‌یابد. دلیل این نقش حفاظتی به این صورت شرح داده می‌شود که هورمون‌های گیاهی، تولید و تحریک تخریب توسط رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید و رادیکال هیدروکسی را که موجب صدمه به لیپیدهای غشا می‌شوند، کاهش می‌دهند (Werner and Schmulling, 2009). اگرچه این آزمایش در شرایط کنترل‌شده و فاقد تنش اجرا شد ولی وجود رادیکال‌های آزاد هر چند به مقدار جزئی در سیستم‌هایی که دارای زنجیره انتقال الکترونند، گریزناپذیر است.

نتایج حاصل با مشاهدات Iqbal و همکاران (۲۰۱۸) نیز مطابقت دارد که بیان نمودند در شرایط بدون تنش کاربرد دود آئروسول به مدت یک، دو، سه و چهار ساعت موجب افزایش پایداری غشای پلاسمایی به ترتیب به مقدار ۴/۳، ۴/۳، ۴/۶ و ۱۴/۳ درصد شد (Iqbal et al., 2018). در این مطالعه بین مقدار فنول کل و درصد نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی سلول‌های برگ همبستگی منفی و معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) وجود داشت. همچنین بین مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و مقدار نشت الکترولیت‌ها از غشای پلاسمایی سلول‌های برگ همبستگی منفی و معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) مشاهده شد (جدول ۷).

### نتیجه‌گیری

دودآب ۱:۱۰۰ (v/v) بدون اختلاف معنی‌دار با سیتوکینین موجب افزایش محتوای کلروفیل کل و بهبود پارامترهای

### منابع

- نوروزی شهری، ف.، جلالی هنرمند، س.، سعیدی، م. و مندنی، ف. (۱۳۹۹) ارزیابی کاربرد فیتوهورمون‌های رشدی و غلظت‌های مختلف دودآب بر ویژگی‌های رشدی و عملکرد بیولوژیک گیاهان دارویی بادرنجبویه و ریحان. به زراعی کشاورزی ۲۲: ۱۰۲-۸۹.
- Afroz, S., Mohammad, F., Hayat, S. and Siddiqui, M. H. (2006) Exogenous application of gibberellic acid counteracts the ill effect of sodium chloride in mustard. *Turkish Journal of Biology* 29: 233-236.
- Al-Rumaih, M., Rushdy, S. and Warsy, A. (2002) Alteration in the protein electrophoretic patterns of cowpea, (*Vigna unguiculata* L.) treated with cadmium in the presence or absence of gibberellic acid. *Saudi Journal of Biological Sciences* 9: 47-56.
- Aldesuquy, H. S. (2000) Effect of indol-3-yl acetic acid on photosynthetic characteristics of wheat flag leaf during grain filling. *Photosynthetica* 38: 135-141.
- Aremu, A. O., Plackova, L., Novak, O., Stirk, W. A., Doleza, K. and Van Staden, J. (2016) Cytokinin profiles in ex vitro acclimatized *Eucomis autumnalis* plants pre-treated with smoke-derived karrikinolide. *Plant Cell Reports* 35: 227-238.

- Aremu, A. O., Bairu, M. W., Finnie, J. F. and Van Staden, J. (2012a) Stimulatory role of smoke-water and karrikinolide on the photosynthetic pigment and phenolic contents of micropropagated 'Williams' bananas. *Plant Growth Regulation* 67: 271-279.
- Aremu, A. O., Kulkarni, M. G., Bairu, M. W., Finnie, J. F. and Van Staden, J. (2012b) Growth stimulation effects of smoke-water and vermicompost leachate on greenhouse grown-tissue-cultured 'Williams' bananas. *Plant Growth Regulation* 66: 111-118.
- Arnon, A. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Basak, U., Das, A. and Das, P. (2000) Rooting response in stem cuttings from five species of mangrove trees: Effect of auxins and enzyme activities. *Marine Biology* 136: 185-189.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay predictable to acrylamide gels. *Annals of Biochemistry* 44: 276-287.
- Bilger, W. and Bjorkman, O. (1994) Relationships among violaxanthin deepoxidation, thylakoid membrane conformation, and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching in leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Planta* 193: 238-46.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Carpin, S., Crevecoeur, M., Greppin, H. and Penel, C. (1999) Molecular cloning and tissue-specific expression of an anionic peroxidase in zucchini. *Plant Physiology* 120: 799-810.
- Casano, L. M., Martin, M. and Sabater, B. (1994) Sensitivity of superoxide dismutase transcript levels and activities to oxidative stress is lower in mature-senescent than in young barley leaves. *Plant Physiology* 106: 1033-1039.
- Chaloupkova, K. and Smart, C. C. (1994) The abscisic acid induction of a novel peroxidase is antagonized by cytokinin in *Spirodela polyrrhiza* L. *Plant Physiology* 105: 497-507.
- Chance, B. and Maehly, A. (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology* 2: 764-775.
- Chiwocha, S. D., Dixon, K. W., Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Merritt, D. J., Nelson, D. C., Riseborough, J. M., Smith, S. M. and Stevens, J. C. (2009) Karrikins: A new family of plant growth regulators in smoke. *Plant Science* 177: 252-256.
- Chow, W., Anderson, J. and Melis, A. (1990) The photosystem stoichiometry in thylakoids of some Australian shade-adapted plant species. *Functional Plant Biology* 17: 665-674.
- Clarke, S., Burritt, D., Jameson, P. and Guy, P. (2000) Effects of plant hormones on white clover mosaic potyvirus double-stranded RNA. *Plant Pathology* 49: 428-434.
- Costa, M. L., Civello, P. M., Chaves, A. R. and Martinez, G. A. (2005) Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20 C. *Postharvest Biology and Technology* 35: 191-199.
- Davies, K. M., Albert, N. W. and Schwinn, K. E. (2012) From landing lights to mimicry: the molecular regulation of flower colouration and mechanisms for pigmentation patterning. *Functional Plant Biology* 39: 619-638.
- Ewane, C. A., Lepoivre, P., Bellaire, D. L. and Lassois, L. (2012) Involvement of phenolic compounds in the susceptibility of bananas to crown rot. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Societe Environnement* 16: 393-404.
- Farrar, J., Pollock, C. and Gallagher, J. (2000) Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. *Plant Science* 154: 1-11.
- Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W. and Trengove, R. D. (2004) A compound from smoke that promotes seed germination. *Science* 305: 977-977.
- Fischer, R., Rees, D., Sayre, K., Lu, Z. M., Condon, A. and Saavedra, A. L. (1998) Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science* 38: 1467-1475.
- Gazaryan, I. G., Lagrimini, L. M., Ashby, G. A. and Thorneley, R. N. (1996) Mechanism of indole-3-acetic acid oxidation by plant peroxidases: Anaerobic stopped-flow spectrophotometric studies on horseradish and tobacco peroxidases. *Biochemical Journal* 313: 841-847.
- Ghebrehiwot, H., Kulkarni, M., Bairu, M. and Van Staden, J. (2013) Plant-derived aerosol-smoke and smoke solutions influence agronomic performance of a traditional cereal crop. *Tef, Experimental Agriculture* 49: 244-55.
- Gibson, S. I. (2005) Control of plant development and gene expression by sugar signaling. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 93-102.
- Gilbert, M., Ripley, B. and Van Staden, J. (2002) The effect of smoke on the photosynthetic gas exchange of *Chrysanthemoides monilifera*. *South African Journal of Botany* 68: 525-531.
- Gross, G. G. (1981) The biochemistry of lignification. *Advances in Botanical Research* 8: 25-63.
- Gupta, N., Sunita, G. and Arvind, K. (2000) Exogenous cytokinin application increases cell membrane and chlorophyll stability in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research Communications* 28: 287-291.
- Hansen, H. and Grossmann, K. (2000) Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition. *Plant Physiology* 124: 1437-1448.

- Iqbal, M., Asif, S., Ilyas, N., Raja, N. I., Hussain, M., Ejaz, M. and Saira, H. (2018) Smoke produced from plants waste material elicits growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving morphological, physiological and biochemical activity. *Biotechnology Reports* 17: 35-44.
- Jain, N., Stirk, W. A. and Van Staden, J. (2008) Cytokinin-and auxin-like activity of a butenolide isolated from plant-derived smoke. *South African Journal of Botany* 74: 327-331.
- Javid, M. G., Sorooshzadeh, A., Sanavy, S. M., Allahdadi, I. and Moradi, F. (2011) Effects of the exogenous application of auxin and cytokinin on carbohydrate accumulation in grains of rice under salt stress. *Plant Growth Regulation* 65: 305-313.
- Kalaji, H. M., Bosa, K., Koscielniak, J. and Zuk-Golaszewska, K. (2011) Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation of two Syrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany* 73: 64-72.
- Kavina, J., Gopi, R. and Panneerselvam, R. (2011) Traditional and non-traditional plant growth regulators alter the growth and photosynthetic pigments in *Mentha piperita* Linn. *International Journal of Environmental Sciences* 11: 124-134.
- Kaya, C., Tuna, A. L. and Okant, A. M. (2010) Effect of foliar applied kinetin and indole acetic acid on maize plants grown under saline conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 34: 529-538.
- Khan, N., Khan, M. and Ansari, H. (2002) Auxin and defoliation effects on photosynthesis and ethylene evolution in mustard. *Scientia Horticulturae* 96: 43-51.
- Kraepiel, Y. and Miginiac, E. (1997) Photomorphogenesis and phytohormones. *Plant, Cell and Environment* 20: 807-812.
- Kulaeva, O. N., Burkhanova, E. A., Karavaiko, N. N., Selivankina, S. Y., Porfirova, S. A., Maslova, G. G., Zemlyachenko, Y. V. and Borner, T. (2002) Chloroplasts affect the leaf response to cytokinin. *Journal of Plant Physiology* 159: 1309-1316.
- Kulkarni, M., Ascough, G., Verschaeve, L., Baeten, K., Arruda, M. and Van Staden, J. (2010) Effect of smoke-water and a smoke-isolated butenolide on the growth and genotoxicity of commercial onion. *Scientia Horticulturae* 124: 434-439.
- Kumar, B., Pandey, D., Goswami, C. and Jain, S. (2001) Effect of growth regulators on photosynthesis, transpiration and related parameters in water stressed cotton. *Biologia Plantarum* 44: 475-478.
- Kurepa, J., Herouart, D., Van Montagu, M. and Inze, D. (1997) Differential expression of CuZn-and Fe-superoxide dismutase genes of tobacco during development, oxidative stress, and hormonal treatments. *Plant and Cell Physiology* 38: 463-470.
- Kuroda, H., Masuda, T., Fusada, N., Ohta, H. and Takamiya, K. (2001) Cytokinin-induced transcriptional activation of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase gene in cucumber. *Journal of Plant Research* 114: 1-7.
- Lew, R. and Tsuji, H. (1982) Effect of benzyladenine treatment duration on  $\delta$ -aminolevulinic acid accumulation in the dark, chlorophyll lag phase abolition, and long-term chlorophyll production in excised cotyledons of dark-grown cucumber seedlings. *Plant Physiology* 69: 663-667.
- Light, M. E., Burger, B. V. and Van Staden, J. (2005) Formation of a seed germination promoter from carbohydrates and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5936-5942.
- Light, M. E., Daws, M. I. and Van Staden, J. (2009) Smoke-derived butenolide: Towards understanding its biological effects. *South African Journal of Botany* 75: 1-7.
- Lutts, S., Kinet, J. and Bouharmont, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78: 389-98.
- Malmir, H. (2014) The changes in phenolic and flavonoids compound related to the harvest times and enzyme activity during stages of leaves development in *Juglans regia* L. *International Journal of Agriculture and Forestry* 4: 338-342.
- Matters, G. L. and Scandalios, J. G. (1987) Synthesis of isozymes of superoxide dismutase in maize leaves in response to O<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub> and elevated O<sub>2</sub>. *Journal of Experimental Botany* 38: 842-852.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- McCue, K. F. and Hanson, A. D. (1990) Drought and salt tolerance: Towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* 8: 358-362.
- Mori, I. C., Murata, Y., Yang, Y., Munemasa, S., Wang, Y. F., Andreoli, S., Tiriach, H., Alonso, J. M., Harper, J. F., Ecker, J. R. and Kwak, J. M. (2006) CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion-and Ca<sup>2+</sup> permeable channels and stomatal closure. *PLOS Biology* 4: 1749-1762.
- Nadernejad, N., Ahmadimoghadam, A., Hossyinfard, J. and Poorseyedi, S. (2013) Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in pistachio (*Pistacia vera* L.). *Iranian Journal of Plant Biology* 5: 95-109.
- Noreen, Z. and Ashraf, M. (2009) Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology* 166: 1764-1774.

- Oliveira Neto, C. F. D., Lobato, A. K. D. S., Goncalves-Vidigal, M. C., Costa, R. C. L. D., Santos Filho, B. G. D., Alves, G. A. R., Maia, W. J. M. S., Cruz, F. J. R., Neves, H. K. B. and Lopes, M. S. (2009) Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7: 588-593.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C. and Dunand, C. (2005) Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports* 24: 255-265.
- Pereira, W. E., De Siqueira, D. L., Martinez, C. A. and Puiatti, M. (2000) Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. *Journal of Plant Physiology* 157: 513-520.
- Petit-Paly, G., Franck, T., Brisson, L., Kevers, C., Chenieux, J. C. and Rideau, M. (1999) Cytokinin modulates catalase activity and coumarin accumulation in in vitro cultures of tobacco. *Journal of Plant Physiology* 155: 9-15.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990) Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Roitsch, T. and Ehneß, R. (2000) Regulation of source/sink relations by cytokinins. *Plant Growth Regulation* 32: 359-567.
- Shah, S. (2011) Comparative effects of 4-Cl-IAA and kinetin on photosynthesis, nitrogen metabolism and yield of black cummin (*Nigella sativa* L.). *Acta Botanica Croatica* 70: 91-97.
- Sheligh, H. Q. (1986) Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal* 47-51.
- Sinha, A. K. (1972) Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* 47: 389-394.
- Soos, V., Sebestyen, E., Juhasz, A., Light, M. E., Kohout, L., Szalai, G., Tandori, J., Van Staden, J. and Balazs, E. (2010) Transcriptome analysis of germinating maize kernels exposed to smoke-water and the active compound KAR1. *BMC Plant Biology* 10: 236.
- Strasser, R. J., Srivastava, A. and Tsimilli-Michael, M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation* 445-483.
- Sunmonu, T., Kulkarni, M. and Van Staden, J. (2016) Smoke-water, karrikinolide and gibberellic acid stimulate growth in bean and maize seedlings by efficient starch mobilization and suppression of oxidative stress. *South African Journal of Botany* 201: 4-11.
- Synkova, H., Semoradova, S., Schnablova, R., Witters, E., Husak, M. and Valcke, R. (2006) Cytokinin-induced activity of antioxidant enzymes in transgenic Pssu-ipt tobacco during plant ontogeny. *Biologia Plantarum* 50: 31-41.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2012) *Plant Physiology*. Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Van Staden, J., Jager, A. K., Light, M. E., Burger, B. V., Brown, N. C. and Thomas, T. H. (2004) Isolation of the major germination cue from plant-derived smoke. *South African Journal of Botany* 70: 654-659.
- Vats, S., Tiwari, R., Alam, A., Behera, K. K. and Pareek, R. (2012) Evaluation of phytochemicals, antioxidant and antimicrobial activity of in vitro culture of *Vigna unguiculata* L. Walp. *Researcher* 4: 70-74.
- Werner, T. and Schmulling, T. (2009) Cytokinin action in plant development. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 527-538.
- Xie, Z., Jiang, D., Dai, T., Jing, Q. and Cao, W. (2004) Effects of exogenous ABA and cytokinin on leaf photosynthesis and grain protein accumulation in wheat ears cultured in vitro. *Plant Growth Regulation* 44: 25-32.
- Yaronskaya, E., Vershilovskaya, I., Poers, Y., Alawady, A. E., Averina, N. and Grimm, B. (2006) Cytokinin effects on tetrapyrrole biosynthesis and photosynthetic activity in barley seedlings. *Planta* 224: 700-709.
- Zhang, W. and Furusaki, S. (1999) Production of anthocyanins by plant cell cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 4: 231-252.
- Zhou, J., Fang, L., Wang, X., Guo, L. and Huang, L. (2013) Effects of smoke-water on photosynthetic characteristics of *isatis indigotica* seedlings. *Sustainable Agriculture Research* 2: 24-28.

## Evaluation of some biochemical characteristics of medicinal plant basil (*Ocimum basilicum* L.) under the application of growth phytohormones and phytohormones-like

Faride Noroozi Shahri, Saeid Jalali Honarmand\*, Mohsen Saeidi, Farzad Mondani

Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran

(Received: 30/11/2020, Accepted: 26/01/2021)

### Abstract

Recently, plant-derived smoke has been included in the group of growth phytohormones due to its bioactive compounds on biological and biochemical processes. In order to evaluate the phytohormones-like effects of *Papaver rhoeas* L. smoke derived on some biochemical characteristics of medicinal plant basil, an experiment was conducted with repeated measurements in research greenhouse of Campus of Agricultural and Natural Resources of Razi University in 2017. The experimental treatments included eight levels of leaf foliar application (control, Smoke-water in 100, 5000, 1000 and 5000 dilutions accompanying with cytokinin, auxin and gibberellic acid (each of them with concentration 50  $\mu$ M)) with 3 replications and 2 harvest stages. The results indicated that application of smoke-water (1:500 and 1:100 (v/v)) improved gas exchange status and also increased chlorophyll content, without significant difference with cytokinin. Also, all chlorophyll fluorescence parameters increased significantly under the application of phytohormones and smoke-water. Levels of foliar (especially SW: 1:500 and 1:100 (v/v)) reduced electrolyte leakage of plasma membrane and the content of soluble carbohydrates. The highest total phenolic and anthocyanins content was obtained from leaf foliar in the smoke-water of 1:100 and 1:500 (v/v), respectively. Smoke-water at concentration 1:100 (v/v) without significant difference with phytohormones auxin and gibberellic acid significantly increased the activity of peroxidase. In general, it can be concluded that aqueous extracts of plants-smoke derived (especially SW 1:100 (v/v)) without significant differences with synthetic phytohormones had the ability to reduce the biochemical limitations of basil and might improve its growth conditions.

**Keywords:** Auxin, Karrikinolide, Cytokinin, Gibberellic acid, Photosynthesis, Smoke-water

Corresponding author, Email: sjhonarmand@yahoo.com