University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

Homepage: http:// ijhs.ut.ac.ir/

Effect of Foliar Application of Salicylic Acid on Reduction of Low Irrigation Impacts in Holy Basil *(Ocimum sanctum)*

Sudabeh Mafakheri ✉ [1], **Behvar Asghari** [2]

1. Corresponding Author, Department of Horticultural Sciences engineering, Faculty of Agriculture and natural resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran. E-mail: mafakheri@ikiu.ac.ir
2. Department of Horticultural Sciences engineering, Faculty of Agriculture and natural resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran. E-mail: asghari@eng.ikiu.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 24 January 2023

Received in revised form: 12 March 2023

Accepted: 30 April 2023

Published online: 22 June 2023

Keywords:

Drought stress,

Essential oil,

Medicinal plant,

Phytohormone.

ABSTRACT

Water deficit is one of the most fundamental problems of agricultural systems throughout the world, which influences both yield and quality of the products. Applying compounds such as salicylic acid (SA) can improve plant resistance against environmental stresses. The present study was conducted to evaluate the impact of drought stress and SA application on quantitative and qualitative traits of holy basil (*Ocimum sanctum*), based on a factorial experiment in the form of a completely randomized design in three replications. The experimental treatments included drought stress at three levels (100, 70, and 50% FC) and foliar application of salicylic acid at three levels (0, 0.75, and 1.5 mM). Obtained results showed that water deficit caused a decrease in plant growth factors, RWC, and the amount of photosynthetic pigments, while foliar application of salicylic acid increased the above-mentioned parameters. Drought stress and foliar application of salicylic acid increased proline content, total content of phenolic compounds, flavonoid compounds and DPPH free radicals inhibition. In addition, the percentage of essential oils increased under drought stress. Also, plants that were sprayed with salicylic acid, showed a significant increase in essential oil percentage compared to the control. By reducing irrigation water, the percentage of eugenol in essential oil was decreased, but foliar spraying with a high concentration of salicylic acid increased the percentage of this compound. The experimental treatments also had a significant effect on the percentage of 1, 8-cineole and estragole compounds. Therefore, the application of a proper amount of SA can be considered a practical and simple strategy for increasing the quality and quantity of holy basil in arid and semi-arid areas.

Cite this article: Mafakheri, S., & Asghari, B. (2023). Effect of Foliar Application of Salicylic Acid on Reduction of Low Irrigation Impacts in Holy Basil (*Ocimum sanctum*). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 54 (2), 249-267. DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2023.353738.2084

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2023.353738.2084

Extended Abstract

Introduction

Ocimum sanctum, a member of the Lamiaceae family, is a vital medicinal and aromatic plant with a global presence. Adequate irrigation is pivotal for optimal growth and development of Holy Basil, as well as other Ocimum species. Drought, a major abiotic stressor, significantly impacts plant health and agricultural productivity worldwide. Drought stress, characterized by inadequate water availability including precipitation and soil moisture throughout a plant's life cycle, critically affects physiological and biochemical processes, including photosynthesis, respiration, ion uptake, and nutrient metabolism. To mitigate the detrimental effects of drought stress, plants employ various mechanisms known as avoidance, escape, and tolerance. Salicylic acid (SA), classified as a phenolic growth regulator, plays a crucial role in regulating plant growth and development. It serves as a potent signaling molecule in plant defense by modulating physiological and biochemical functions.

Material and Methods

This study utilized a factorial design with three replications in a randomized configuration within a research greenhouse at the International University of Imam Khomeini. Experimental treatments included three levels of drought stress (W1: 100%, W2: 70%, W3: 50% of field capacity) and three levels of foliar salicylic acid spray (S0: 0 mM, S1: 0.75 mM, S2: 1.5 mM). Seeds obtained from Bazran Company were sown at 1.5 cm depth in each pot, with five seedlings per pot. SA foliar spray occurred at the 6-leaf stage, three days prior to drought stress treatments. Growth parameters, such as plant height, fresh and dry weight, and number of branches, were assessed at full flowering. Standard methods measured relative water content (RWC), photosynthetic pigments, proline content, total phenolic and flavonoid compounds, DPPH free radical inhibition, essential oil percentage, and composition.

Results

Results showed evident negative impacts of water deficit on plant growth factors, RWC, and photosynthetic pigment content. In contrast, foliar salicylic acid application improved these parameters. Drought stress, combined with salicylic acid treatment, increased proline content, total phenolic and flavonoid compounds, and DPPH free radical inhibition. As drought intensity and salicylic acid concentration increased, holy basil plants exhibited significantly elevated total phenolic content. For instance, the S2W3 treatment recorded the highest phenolic compound level (65 mg GAEs/g DW), whereas the lowest was in S0W1 (30.27 mg GAEs/g DW). A similar pattern was observed for flavonoid content, with S2W3 at 18.75 mg QEs/g DW, and S0W1 and S0W2 at 12.41 and 12.98 mg QEs/g DW, respectively. The S2W3 treatment demonstrated the highest DPPH scavenging activity (57.90%), and S0W1 the lowest (31.08%). Essential oil percentage increased under drought stress and also application of salicylic acid. Eugenol percentage decreased with drought but increased with high salicylic acid concentrations. The highest eugenol percentage was from the W1 treatment (21.29%), and salicylic acid application (S2) at 20.20% compared to control. Notably, the experimental treatments significantly affected the percentage of 1 and 8-cineole and estragole compounds. Drought stress conditions (W2 and W3) led to the highest levels of 1 and 8-cineole (19.82% and 20.55%, respectively). Additionally, a higher salicylic acid concentration (S2) substantially increased (20.74%) the amount of this compound in holy basil essence. Estragole levels were highest in S2W1 and S2W2 (13.4% and 13.76%), and lowest in S0W1 (10.06%).

Discussion

Results indicated that reduced irrigation slows Holy Basil growth due to impaired cell division, elongation, and differentiation, controlled by water availability. Growth decline might result from reduced chlorophyll content, photosynthesis, and cell division due to drought. The impact of salicylic acid on growth could be linked to hormonal changes, improvements in photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance. However, the effect of the external application of salicylic acid on plant growth depends on species, growth stage, and concentration. Salicylic acid regulates growth, cell division, and physiological processes, enhancing plant adaptability.

Conclusion

Adverse impact of water scarcity on yield quality and quantity of holy basil can be mitigated through salicylic acid application, protecting against drought. Salicylic acid significantly improves physiological processes, including photosynthetic pigment content and water retention. The role of salicylic acid is not limited to immediate plant defense; it exerts long-term effects on growth and metabolism, preparing plants for future stress. Thus, foliar application of salicylic acid at 1.5 mM can be an economical strategy to enhance holy basil yield under drought conditions.

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۴، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

Homepage: http://ijhs.ut.ac.ir//

تأثیر محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک بر کاهش اثرات کم آبی در گیاه ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*)

سودابه مفاخری[1]✉ | بهور اصغری[2]

۱. نویسنده مسئول، گروه مهندسی علوم باغبانی. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی. دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره). قزوین. ایران. رایانامه: mafakheri@ikiu.ac.ir

۲. گروه مهندسی علوم باغبانی. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی. دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره). قزوین. ایران. رایانامه: asghari@eng.ikiu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱

کلیدواژه‌ها:

اسانس، تنش خشکی، گیاه دارویی، هورمون گیاهی.

چکیده

کمبود آب یکی از اساسی‌ترین مشکلات سیستم‌های کشاورزی در سراسر جهان است که بر عملکرد و کیفیت محصول تأثیر می‌گذارد. استفاده از ترکیباتی مانند اسید سالیسیلیک می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های محیطی بهبود بخشد. آزمایش حاضر به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف آبیاری و کاربرد اسید سالیسیلیک بر صفات کمی و کیفی ریحان مقدس (*Ocimm sanctum*) ، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح (۱۰۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که کمبود آب سبب کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی گیاه، محتوای نسبی آب برگ و مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی گردید، درحالی که محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک باعث افزایش پارامترهای مذکور شد. تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک، باعث افزایش محتوای پرولین، محتوای تام ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، و مهار رادیکالهای آزاد DPPH شد. علاوه‌براین، درصد اسانس تحت تنش خشکی افزایش یافت. همچنین، در گیاهانی که با اسید سالیسیلیک محلول‌پاشی شده بودند ، درصد اسانس افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. با کاهش آب آبیاری، از درصد اوژنول اسانس کاسته شد، اما محلول‌پاشی با غلظت بالای اسید سالیسیلیک سبب افزایش این ترکیب گردید. تیمارهای آزمایشی بر درصد ۱و ۸-سینئول و استراگول نیز تاثیر داشتند. بنابراین، استفاده از مقدار مناسب اسید سالیسیلیک را می‌توان به عنوان یک راهکار عملی و ساده برای افزایش کیفیت و کمیت پیکر رویشی ریحان مقدس، در مناطق خشک و نیمه خشک در نظر گرفت.

استناد: مفاخری، سودابه؛ و اصغری، بهور (۱۴۰۲). تأثیر محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک بر کاهش اثرات کم آبی در گیاه ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*). *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۴ (۲)، ۲۶۷-۲۴۹. DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2023.353738.2084

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: http//doi.org/10.22059/IJHS.2023.353738.2084

مقدمه

ریحان مقدس با نام علمی *Ocimum sanctum* L. از تیره نعناعیان[1] گیاهی است علفی و چندساله که در طب سنتی نقاط مختلف جهان، به عنوان گیاهی شفابخش به شکل‌های مختلف مانند دم‌کرده، پودر برگ خشک و یا به صورت تازه، استفاده می‌شود. برگ‌های ریحان مقدس غنی از اسانس است و مهم‌ترین ترکیبات آن را استراگول[2] ، اوژنول[3] ، سینئول[4] و متیل اوژنول[5] تشکیل می دهند (Nguyen *et al*., 2022).

پژوهش‌های مختلف نشان داده است که خواص شیمیایی گیاهان دارویی تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند موقعیت جغرافیایی، دما، ارتفاع از سطح دریا، تنش‌های زنده و غیر زنده، اقلیم، ژنتیک و غیره قرار می‌گیرند. با توجه به کمبود آب در کشور و خشکسالی‌های پی در پی، همچنین نظر به اهمیت دارویی بسیار بالای ریحان مقدس که برای درمان بیماری‌های مختلف از سرماخوردگی گرفته تا بیماری‌های مزمن، سرطان‌ها و دیابت استفاده می‌شود (Singh and Chaudhuri, 2018)، در تحقیق حاضر تاثیر سطوح مختلف آبیاری و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر کمیت و کیفیت ریحان مقدس، به منظور ارائه راهکاری برای تولید تجاری این گیاه با حداقل مقدار آبیاری در کشورمان ایران، بررسی شد.

پیشینه پژوهش

برخی مطالعات انجام شده بر بررسی امکان بهبود کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی با تغییر شرایط محیط رشد گیاه، تمرکز داشته‌اند، با این وجود معمولا تنش‌های محیطی سبب کاهش رشد رویشی گیاهان می‌شوند (Shahzad *et al*., 2015). تنش خشکی که در کشاورزی به کمبود رطوبت مورد نیاز برای رشد و نمو معمولی گیاه در تمام مراحل چرخه رشدی اشاره دارد (Minhas *et al*., 2017) با کاهش سرعت رشد گیاه، بر تجمع زیست توده تاثیر منفی گذاشته و سبب کاهش محصول می‌گردد. از سوی دیگر، تنش خشکی تاثیر قابل توجهی بر تعادل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارد و می‌تواند سبب تجمع متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های گیاه گردد (Osama *et al*., 2019). با این وجود، برخی محققان اعلام کرده‌اند که تنش خشکی سبب کاهش مقدار اوژنول در اسانس ریحان مقدس می‌شود (Rastogi *et al*., 2019; Nguyen *et al*., 2022). در مجموع با توجه به نیاز آبی به نسبت بالای گیاه ریحان، عدم تامین آب مورد نیاز این گیاه، می‌تواند تاثیر قابل توجهی بر کاهش تولید محصول داشته باشد. لذا، یافتن راهی برای بهبود تحمل به خشکی ریحان مقدس بسیار مهم و ضروری به نظر می‌رسد. به منظور تولید محصول در سطوح بالا تحت تنش‌های زنده و غیر زنده دو راهکار اصلی وجود دارد: اصلاح نژاد برای تحمل/مقاومت، و استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی برای حفاظت از محصول. اصلاح نژاد برای مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا امکان پذیر است (Hussein *et al*., 2018)، اما برای تحمل به خشکی و سایر تنش‌های غیر زنده بسیار پیچیده است. اول به دلیل خصوصیات خود سیستم گیاهی، و دوم به دلیل اینکه مقاومت یک ویژگی چند ژنی و کمی است. بنابراین، استفاده از ترکیبات شیمیایی به عنوان یک راهکار حفاظت از محصول با القای دفاع گیاه از خود، نه تنها در برابر تنش‌های زیستی بلکه در برابر تنش‌های غیرزیستی نیز موثر بوده و امروزه در اولویت تحقیقات قرار دارد. از جمله این مواد شیمیایی مفید، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (PGRs[6]) هستند (Damalas, 2019). اسید سالیسیلیک (SA[7]) یک ترکیب فنولی‌است که می‌تواند به عنوان هورمون گیاهی عمل کند (Sharma, 2014). این ترکیب در پاسخ به تنش‌های مختلف، بر تنظیم رشد گیاه تاثیر می‌گذارد (Joseph *et al*., 2010) و می‌تواند عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان تحریک کند. کاربرد اسید

1 Lamiaceae
2 Estragole
3 Eugenol
4 Cineol
5 Methyl eugenol
6 Plant Growth Regulators
7 2-hydroxybenzoic acid

سالیسیلیک توانسته مقاومت گیاهان لوبیا و گوجه فرنگی را در برابر گرما، خشکی و دمای پایین افزایش دهد (Senaratna *et al*., 2000). در مطالعه‌ای، بذر گیاه ریحان با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک پرایمینگ شد و تحت تاثیر سطوح مختلف خشکی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسید سالیسیلیک سبب افزایش صفات کمی مانند وزن تر و خشک گیاه، تعداد شاخه فرعی و تعداد برگ در گیاه شد. همچنین در شرایط تنش خشکی و کاربرد اسید سالیسیلیک، محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاهچه‌های ریحان به طور معنی‌داری افزایش یافت (Kulak *et al*., 2021). در مطالعه دیگری بیان شد که رشد ریحان به شدت تحت تأثیر کمبود آب قرار می‌گیرد، اما کاربرد SA باعث ارتقاء پارامترهای رشد گیاه، مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای نسبی آب برگ (RWC) در شرایط کمبود آب شد. محققان این پژوهش گزارش کردند که محلول پاشی SA را می‌توان به عنوان یک راهکار اقتصادی برای افزایش عملکرد ریحان در شرایط کم آبی در نظر گرفت (Damalas, 2019. Kordi *et al* (2013) نیز به این نتیجه رسیدند که محلول‌پاشی با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در گیاه ریحان، سبب افزایش مقاومت آن به تنش خشکی شده است.

روش شناسی پژوهش

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح (۱۰۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی که به ترتیب با W1، W2 و W3 نشان داده شده است) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار که به ترتیب با S0، S1 و S2 نشان داده شده است) بودند. بذرهای مورد استفاده از شرکت بذران تهیه گردید. بذرها به صورت ردیفی و در سطح گلدان‌های پلاستیکی ۸ کیلویی با قطر دهانه ۲۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۶ سانتی‌متر کشت شدند و سپس آبیاری انجام گرفت. در مرحله ظهور چهار برگ اصلی، تنک کردن انجام گرفت و در هر گلدان ۵ بوته سالم و یکسان نگهداری و سایر گیاهان حذف شدند. تا زمان اعمال تیمارهای آزمایشی (مرحله ظهور ۶ برگ اصلی)، مراقبت‌های زراعی مورد نیاز به صورت یکسان برای همه گلدان‌ها انجام گرفت. خاک استفاده شده در گلدان‌ها نیز تجزیه گردید که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

بافت خاک	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	نیتروژن کل (٪)	ماسه(٪)	لای (٪)	رس (٪)	ماده آلی (٪)	هدایت الکتریکی (EC)	اسیدیته (pH)
لومی–شنی	۲۸۵	۷/۹	۰/۰۶	۳۵	۴۰	۲۵	۰/۴۵	۱/۶۷	۷/۴

برای تهیه محلول سالیسیلیک اسید، پودر سالیسیلیک اسید در مقدار کمی اتانول حل شد و سپس در۵۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر با غلطت ده برابر نسبت به بیشترین غلظت مورد نظر به حجم رسید و برای تهیه غلظت‌های مورد نظر با آب مقطر رقیق‌سازی گردید. برای اطمینان از جذب بهتر اسید سالیسیلیک در محلول تهیه شده از توین ۲۰ به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر در لیتر استفاده گردید. محلول‌پاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک در مرحله شش برگی، ۳ روز قبل از شروع تیمارهای آبیاری، انجام شد. تمامی گیاهان به صورتی که تمام سطوح فوقانی و زیرین اندام‌های هوایی کاملا خیس شوند محلول‌پاشی شدند. همچنین گیاهان شاهد به همین روش و تنها با آب مقطر تیمار شدند.

۱Tween 20

برای اعمال تنش خشکی، ابتدا بافت خاک، جرم مخصوص ظاهری خاک، رطوبت خاک در نقطه پژمردگی، ظرفیت زراعی و آب قابل نگهداری خاک تعیین شد، سپس تنش خشکی اعمال گردید. تعیین مقدار آب مورد نیاز برای هر تیمار تنش از طریق وزن نمودن گلدان‌ها انجام گرفت.

هنگاهی که ۵۰ درصد بوته‌ها به مرحله گلدهی رسیدند، صفاتی شامل، ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی و محتوای نسبی آب برگ اندازه‌گیری شد. برداشت بوته از سطح خاک صورت گرفت و بلافاصله وزن تر هر بوته اندازه‌گیری گردید. خشک کردن در سایه و با تهویه مناسب انجام گرفت و سپس وزن خشک بوته اندازه‌گیری شد.

برای تعیین محتوای نسبی آب، نمونه برداری از آخرین برگ توسعه یافته تمامی تیمارهای آزمایشی انجام و نمونه ها بلافاصله درون یخ قرار گرفته و در آزمایشگاه وزن تر آنها با ترازوی دقیق اندازه گیری شد. سپس نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر و در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد و به دنبال آن وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین در رابطه ۱، محتوای نسبی آب بدست آمد.

رابطه ۱)

$$RWC = \frac{Fw - Dw}{Tw - Dw} \times 100$$

که در آن RWC محتوای نسبی آب، D_W وزن خشک برگ، F_w وزن تر برگ و T_w وزن تورم کامل برگ می‌باشد.

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی، نمونه‌های گیاهی مورد نیاز قبل از برداشت گیاهان تهیه گردید و ۰/۲۵ گرم از برگ‌های جوان در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد، سپس نمونه‌ها در سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و مقدار جذب نمونه در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل 2100 UNICO ساخت کشور چین، قرائت گردید و با استفاده از روابط ۲ و ۳ ، مقادیر کلروفیل a و b بر اساس میلی‌گرم بر گرم برگ تازه محاسبه شد (Dere *et al*., 1998).

رابطه ۲)

Chlorophyll a = (19.3 * A663 - 0.86 * A645) V/100W

رابطه ۳)

Chlorophyll b = (19.3 * A645 - 3.6 * A663) V/100W

V= حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

برای اندازه‌گیری میزان محتوای فنل کل (TPC) و فلاونویید کل (TFC) از متانول ۸۰ درصد به عنوان حلال استخراج استفاده شد. جهت تهیه عصاره گیاه، به ۰/۱ گرم از نمونه خشک پودر برگ، ۱۰ میلی‌لیتر حلال اضافه گردید. عصاره به دست آمده پس از ۱۰ ساعت تکان خوردن روی شیکر، صاف شد. برای تعیین محتوای فنول کل، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره بدست آمده با ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱:۱۰ واکنشگر فولین–سیوکالتو[1] مخلوط شد و پس از ۶ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و تاریکی ، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم (w/v) به آن اضافه گردید. محلول حاصل به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد و در نهایت جذب محلول در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت‌های مختلف ترکیب گالیک اسید رسم و نتایج بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک عصاره بیان شد (Asghari *et al*., 2020).

1Folin–Ciocalteu reagent

محتوای فلاونوئید کل نمونه‌ها با استفاده از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد (Bahadori *et al*., 2016). به این ترتیب که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با یک میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۵ درصد مخلوط و سپس یک میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۰/۵ مولار به نمونه اضافه شد. حجم کل با استفاده از آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه، جذب نمونه در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار محتوای فلاونوئید کل نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک عصاره گزارش گردید.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های مورد بررسی از طریق اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH[1] مورد ارزیابی قرار گرفت (Asghari *et al*., 2019). برای اندازه‌گیری قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH حدود ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه، با ۱۸۰ میکرولیتر از محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید. پس از ۳۰ دقیقه، کاهش رنگ محلول در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد و درصد مهار رادیکال‌های DPPH با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد.

رابطه ۴)

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100$$

Inhibition (%): درصد مهار رادیکال‌های آزاد

$A_{control}$: جذب محلول کنترل

A_{sample}: جذب محلول نمونه

مقدار پرولین آزاد موجود در نمونه‌های گیاهی بر اساس روش .Bates et al (1973) با اعمال برخی تغییرات انجام شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از برگ‌های خرد شده گیاه با ۵ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفواسید سالیسیلیک[2] مخلوط گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌ی حاصل پس از سانتریفیوژ در ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید اضافه شد و به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به هر نمونه پس از سرد شدن مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و سپس میزان جذب نمونه در ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. به این منظور از دستگاه الیزا شرکت Bio Tech Epoch ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

اسانس‌گیری از پیکر رویشی خشک شده ریحان مقدس و به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت، انجام گرفت. اسانس حاصل به کمک سولفات سدیم خشک، رطوبت زدایی شد و تا زمان تجزیه در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری درصد ترکیبات موجود در آن از دستگاه GC مدل ۶۹۸۰، ساخت آمریکا و مجهز به آشکارساز FID با ستونی از نوع DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر با گاز حامل نیتروژن استفاده شد. برای طیف GC/MS از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی مدل ۵۹۷۰، ساخت آمریکا و مجهز به آشکارساز FID و ستون مویی DB-5 به طول ستون ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر با ۰/۲۵ میکرومتر با گاز حامل هلیم و ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. درصد نسبی هر یک از ترکیب‌ها هم با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل بدست آمد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹,۴ استفاده شد. مقایسه میانگین های داده ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید.

1 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
2 Sulfosalicylic acid

یافته های پژوهش

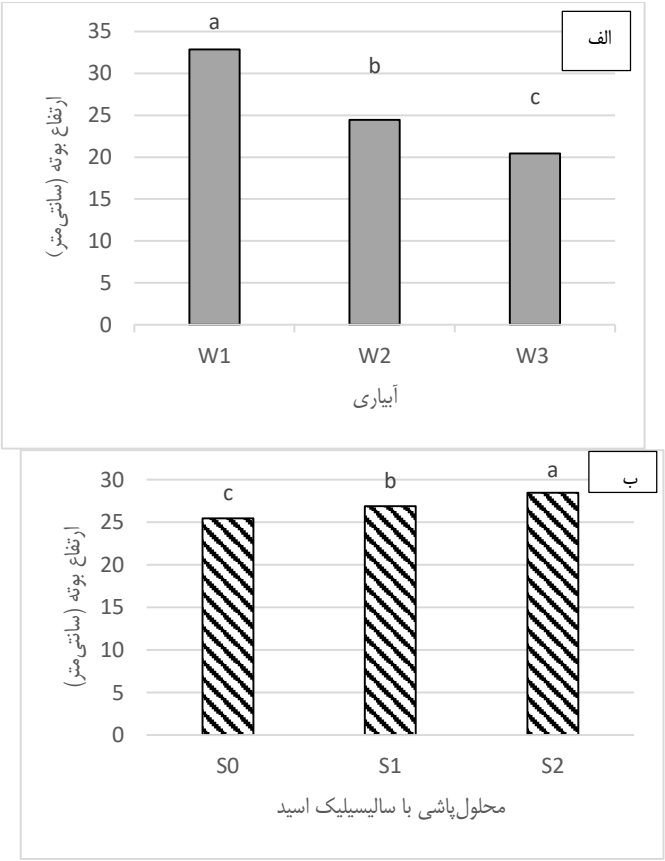
ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تیمارهای آزمایشی بر ارتفاع بوته در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید، اما اثر متقابل این تیمارها بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی، ارتفاع بوته به صورت معنی‌داری کاهش یافت(شکل ۱. الف). در حالیکه، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک باعث افزایش ارتفاع بوته شد (شکل ۱. ب).

جدول ۲. تجزیه واریانس تاثیر محلول‌پاشی با سطوح مختلف SA و تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان مقدس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		ارتفاع بوته	وزن تر بوته	وزن خشک بوته	تعداد شاخه فرعی	محتوای نسبی آب	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
اسید سالیسیلیک	۲	۲۰/۳۳**	۴/۶۱**	۰/۵۷۹**	۴۲/۹۲۵**	۸۲/۳۴۲**	۰/۴۶۰**	۰/۰۴۳**	۰/۲۷۶**
آبیاری	۲	۳۴۴/۳۳**	۳۰/۳۷**	۵/۶۶۸**	۲۱/۹۲۳**	۶۶۶/۹۳۳**	۰/۸۵۶**	۰/۰۳۴**	۱/۱۷۱**
اسید سالیسیلیک × آبیاری	۴	۳/۸۳^{ns}	۱/۷۹۵**	۰/۰۹۳*	۰/۵۹۲ ^{ns}	۷/۶۸۲**	۰/۰۳۶*	۰/۰۲۶**	۰/۰۹۸**
خطا	۱۸	۱/۳۲	۰/۰۹۱	۰/۰۲۸	۰/۳۹۸	۰/۲۴۵	۰/۰۱۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات ٪		۱۴/۲۷	۱۰/۶۳	۴/۹۶	۵/۱۹	۱۰/۶۷	۵/۱۲	۵/۸۳	۱۲/۹۶

*، ** و ns: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار. (منبع: یافته های تحقیق)



شکل ۱. تاثیر تنش خشکی (الف) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (ب) بر ارتفاع بوته ریحان مقدس.
مقادیر ستون های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی دار می باشند. (منبع: یافته های تحقیق)

وزن تر بوته

تاثیر تیمارهای آزمایشی و اثر متقابل آنها بر وزن تر بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین وزن تر بوته در تیمارهای S0×W1، S1×W1 و S2×W1 (به ترتیب به میزان ۲۰/۲۰، ۲۰/۲۳ و ۲۰/۴۰ گرم) حاصل شد. با افزایش خشکی، وزن تر بوته کاهش چشمگیری نشان داد و این در حالی است که محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک توانست تاثیر منفی خشکی بر وزن تر بوته را به طور معنی‌داری کاهش دهد (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین تاثیر محلول‌پاشی با سطوح مختلف SA و تنش خشکی بر صفات کمی و کیفی ریحان مقدس

تیمار	وزن تر بوته (گرم)	وزن خشک (گرم)	محتوای نسبی آب (درصد)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم برگ تازه)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم برگ تازه)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم برگ تازه)
S0×W1	۲۰/۲۰a	۴/۰۳a	۸۰/۵۲c	۲/۱۱bc	۱/۱۳a	۳/۲۴ b
S0×W2	۱۸/۲۷c	۳/۲۷c	۷۱/۸۳d	۱/۷۳e	۰/۹۹b	۲/۷۲ef
S0×W3	۱۴/۹۳e	۲/۱۱f	۶۲/۷۷g	۱/۵۰f	۱/۱۴a	۲/۶۴f
S1×W1	۲۰/۲۳a	۴/۰۲a	۸۱/۸۷b	۲/۲۳b	۱/۰۹ab	۳/۳۲b
S1×W2	۱۸/۸۴b	۳/۵۵bc	۷۱/۸۵d	۱/۹۰de	۱/۱۴a	۳/۰۴c
S1×W3	۱۶/۸۷d	۲/۴۹e	۶۴/۰۲f	۱/۸۰e	۱/۰۹ab	۲/۸۹cd
S2×W1	۲۰/۴۰a	۴/۲۶a	۸۴/۱۳a	۲/۷۰a	۱/۱۴a	۳/۸۴a
S2×W2	۱۹/۲۰b	۳/۶۹b	۷۹/۸c	۲/۰۷c	۰/۸۷c	۲/۹۴ed
S2×W3	۱۸/۰۷c	۲/۹۹d	۶۸/۲e	۲/۱۰c	۰/۹۳bc	۳/۰۳cd

حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می باشد. S0، عدم کاربرد اسید سالیسیلیک؛ S1، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار؛ S2، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار. W1، آبیاری به میزان ظرفیت زراعی؛ W2 آبیاری به میزان ۷۰ درصد ظرفیت زراعی؛ W3، آبیاری به میزان ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک. (منبع: یافته های تحقیق)

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین تاثیر محلول‌پاشی با سطوح مختلف SA و تنش خشکی بر صفات کمی و کیفی ریحان مقدس

تیمار	محتوای فنول کل (میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک)	محتوای فلاونوئیدکل (میلی‌گرم کوئرسیتین در گرم وزن خشک)	قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (درصد)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)	استراگول (درصد)
S0×W1	۳۰/۲۷f	۱۲/۴۱e	۳۱/۸e	۱۵/۱۴g	۱۰/۰۶d
S0×W2	۳۲/۹۳e	۱۲/۹۸e	۳۶/۳۱d	۱۸/۶۳e	۱۰/۹۶c
S0×W3	۴۸/۳۳d	۱۴/۰۴d	۴۲/۵۸c	۲۶/۴۷b	۱۱/۲۷c
S1×W1	۵۴/۳۳c	۱۵/۸۶c	۴۴/۶۷c	۱۶/۹۸f	۱۰/۸۳c
S1×W2	۴۶/۰۰d	۱۶/۸۴bc	۴۴/۱۷c	۲۰/۵۴d	۱۲/۲۲b
S1×W3	۵۵/۶۷c	۱۷/۴۷b	۴۸/۵۸b	۲۳/۹۵c	۱۱/۹۹b
S2×W1	۶۱/۰۰b	۱۶/۳۳c	۴۸/۸۸b	۱۸/۳۳e	۱۳/۴۰a
S2×W2	۵۹/۳۳b	۱۷/۶۴b	۵۱/۳۱b	۲۳/۴۷c	۱۳/۷۶a
S2×W3	۶۵/۰۱ a	۱۸/۷۵a	۵۷/۹۰a	۲۹/۵۸a	۱۲/۵۱b

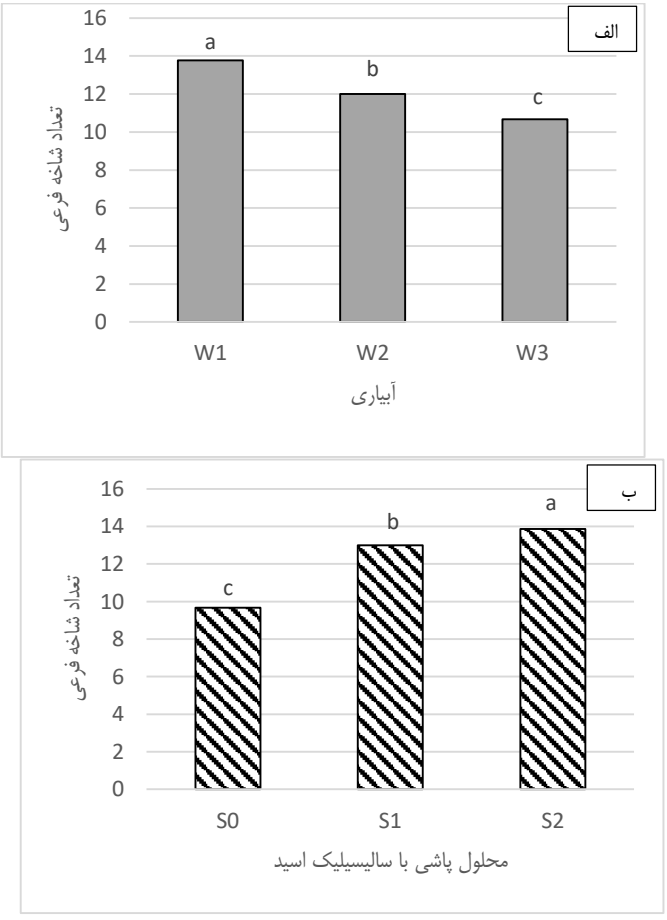
حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، بر اساس آزمون دانکن، می باشد. S0، عدم کاربرد اسید سالیسیلیک؛ S1، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار؛ S2، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار. W1، آبیاری به میزان ظرفیت زراعی؛ W2 آبیاری به میزان ۷۰ درصد ظرفیت زراعی؛ W3، آبیاری به میزان ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک. (منبع: یافته های تحقیق)

وزن خشک بوته

اثرات ساده تیمارها بر وزن خشک بوته در سطح ۱ درصد و اثر متقابل آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین وزن خشک بوته در گیاهانی که تحت تیمارهای S0×W1، S1×W1 و S2×W1 قرار گرفتند به ترتیب با مقادیر ۴/۰۳، ۴/۰۲ و ۴/۲۶ گرم، بدست آمد. (جدول ۳). بنابراین، محلول‌پاشی با SA توانست همانند وزن تر بوته شدت کاهش وزن خشک در شرایط خشکی را کنترل نماید.

تعداد شاخه فرعی

اثر ساده تیمارهای آزمایشی بر تعداد شاخه فرعی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل تیمارها به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین تعداد شاخه فرعی در تیمار های W1 و S2 مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی از تعداد شاخه فرعی به طور معنی‌داری کاسته شد (شکل ۲. الف). همچنین، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تعداد شاخه‌های فرعی به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲. ب).



شکل ۲. تاثیر تنش خشکی (الف) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (ب) بر تعداد شاخه فرعی ریحان مقدس
مقادیر ستون های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشند. (منبع: یافته های تحقیق)

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس ، تیمارهای آزمایشی و اثر متقابل آنها بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین مقدار RWC در گیاهان تحت تیمار S2W1 (۸۴/۱۳ درصد) و کمترین مقدار آن در گیاهان تحت تیمار S0W3 (۶۲/۷۷ درصد)، مشاهده شد (جدول ۳).

رنگدانه‌های فتوسنتزی

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین مقدار کلروفیل a از برگ گیاهان تحت تیمار S2W1، با مقدار ۲/۷۰ میلی‌گرم در گرم برگ تازه، استخراج شد. به لحاظ آماری بالاترین مقدار کلروفیل b مربوط به تیمارهای S0W1، S0W3، S1W1 ، S1W2، S1W3 و S2W1 به ترتیب، به مقدار ۱/۱۳، ۱/۱۴، ۱/۰۹، ۱/۱۴، ۱/۰۹ و ۱/۱۴ میلی‌گرم در گرم برگ تازه، بود. بیشترین میزان کلروفیل کل نیز از گیاهان تیمار S2W1، به مقدار ۳/۸۴ میلی‌گرم در گرم برگ تازه، استخراج گردید (جدول ۳).

محتوای فنول کل

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح مختلف آبیاری، اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر مقدار محتوای فنول کل نمونه‌های گیاهی ریحان مقدس معنی‌دار بود (جدول۴). با افزایش شدت تنش خشکی و غلظت محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک، مقدار محتوای فنول کل گیاه ریحان مقدس به طور معنی‌داری افزایش یافت. به نحوی که بالاترین مقدار ترکیبات فنولی از گیاهان تحت تیمار S2W3، به میزان ۶۵ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک، و کمترین آن در تیمار S0W1، به میزان ۳۰/۲۷ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک، ثبت گردید (جدول ۳).

جدول ۴. تجزیه واریانس تاثیر محلول‌پاشی با سطوح مختلف SA و تنش خشکی بر صفات بیوشیمیایی گیاه ریحان مقدس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		فنول کل	فلاونوئید کل	DPPH	پرولین	درصد اسانس	۱، ۸- سینئول	استراگول	اوژنول
اسید سالیسیلیک	۲	۱۳۸۰/۶۹۴**	۵۰/۰۱۳**	۵۶۴/۶۷**	۳۷/۳۳۱**	۰/۰۳۴**	۹/۱۶۹**	۱۳/۹۰۱**	۱/۸۶۹*
آبیاری	۲	۲۵۷/۶۴۶**	۷/۹۰۶**	۱۵۰/۳۰۵**	۲۲۰/۴۸۱**	۰/۰۹۳**	۷/۹۳۶**	۱/۷۶۳**	۱۷/۶۹۷**
اسید سالیسیلیک × آبیاری	۴	۶۷/۷۳۵**	۰/۲۱۸*	۱۰/۲۵۹*	۶/۰۱۱**	۰/۰۰۴ ^{ns}	۱/۳۱۴ ^{ns}	۱/۱۷۶**	۰/۱۵۲ ^{ns}
خطا	۱۸	۲/۳۰۸	۰/۳۰۸۷	۳/۰۴۸	۰/۳۷۹	۰/۰۰۴	۱/۰۱	۰/۱۶۸	۰/۴۲۳
ضریب تغییرات ٪		۱۱/۰۲	۱۳/۵۱	۱۳/۸۷	۱۲/۸۷	۱۵/۲۸	۱۲/۱۰	۱۳/۴۴	۱۱/۳۰

*، ** و ns به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

محتوای فلاونوئید کل

اثر ساده تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد، بر محتوای فلاونوئیدی نمونه‌ها معنی‌دار بود (جدول ۴). در روندی مشابه با محتوای تام فنولی، بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی از تیمار S2W3 و به مقدار ۱۸/۷۵ میلی‌گرم کوئرسیتین در گرم وزن خشک و کمترین مقدار آن در تیمارهای S0W1 و S0W2 به ترتیب به میزان ۱۲/۴۱ و ۱۲/۹۸ میلی‌گرم کوئرسیتین در گرم وزن خشک، دیده شد (جدول ۳).

قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

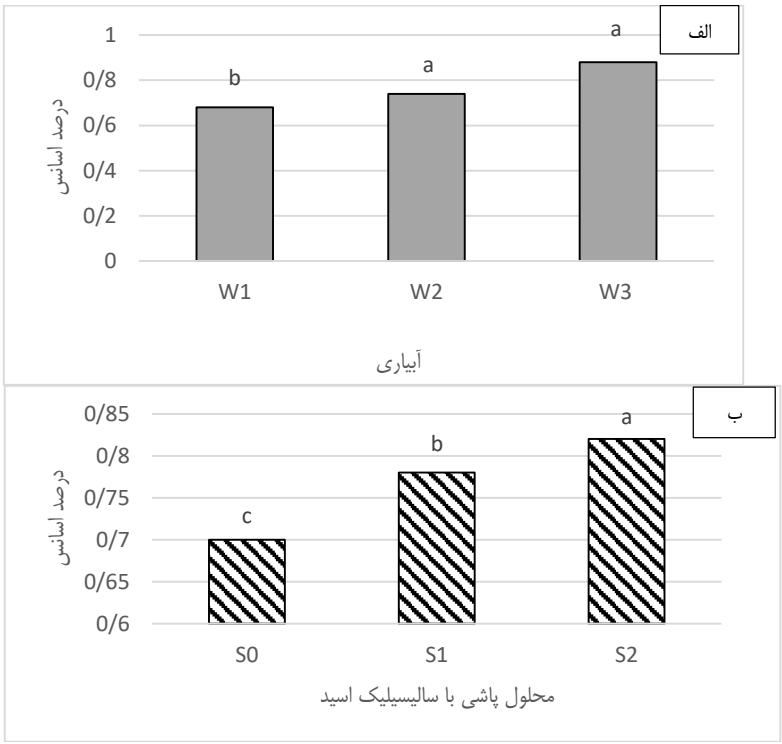
اثر ساده تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل تیمارها بر قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در سطح احتمال ۵ درصد، معنی‌دار گردید (جدول ۴). بیشترین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در تیمار S2W3 و به مقدار ۵۷/۹۰ درصد و کمترین آن در تیمار S0W1 و به میزان ۳۱/۸ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

پرولین

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح مختلف آبیاری، اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر مقدار پرولین معنی‌دار گردید (جدول ۴). تنش خشکی به طور معنی‌داری مقدار پرولین را در ریحان مقدس افزایش داد. همچنین با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، مقدار پرولین در این گیاه افزایش یافت. در نتیجه، بالاترین مقدار پرولین از گیاهانی استخراج شد که تحت تاثیر تیمار S2W3 بودند (۲۹/۵۸ میکرومول بر گرم وزن تر). کمترین مقدار پرولین نیز در تیمار S0W1 و به مقدار ۱۵/۱۴ میکرومول بر گرم وزن تر مشاهده شد (جدول ۳).

درصد اسانس

تاثیر تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد اسانس ریحان مقدس معنی‌دار گردید. اما اثر متقابل این تیمارها، معنی‌دار نشد (جدول ۴). بیشترین درصد اسانس از گیاهان تحت تیمار W3 و به مقدار ۰/۸۸ درصد استخراج شد. با افزایش خشکی، درصد اسانس به طور معنی‌داری افزایش یافت(شکل ۳. الف). محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک هم در مقایسه با عدم کاربرد آن، درصد اسانس را افزایش داد (شکل ۳. ب).

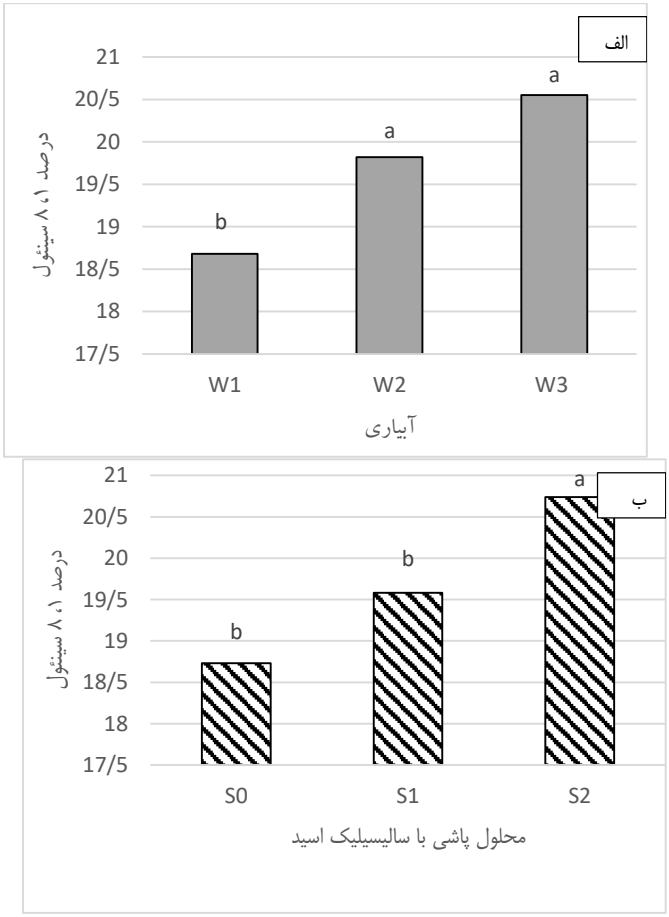


شکل ۳. تاثیر تنش خشکی (الف) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (ب) بر درصد اسانس ریحان مقدس

مقادیر ستون های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشند. (منبع: یافته های تحقیق)

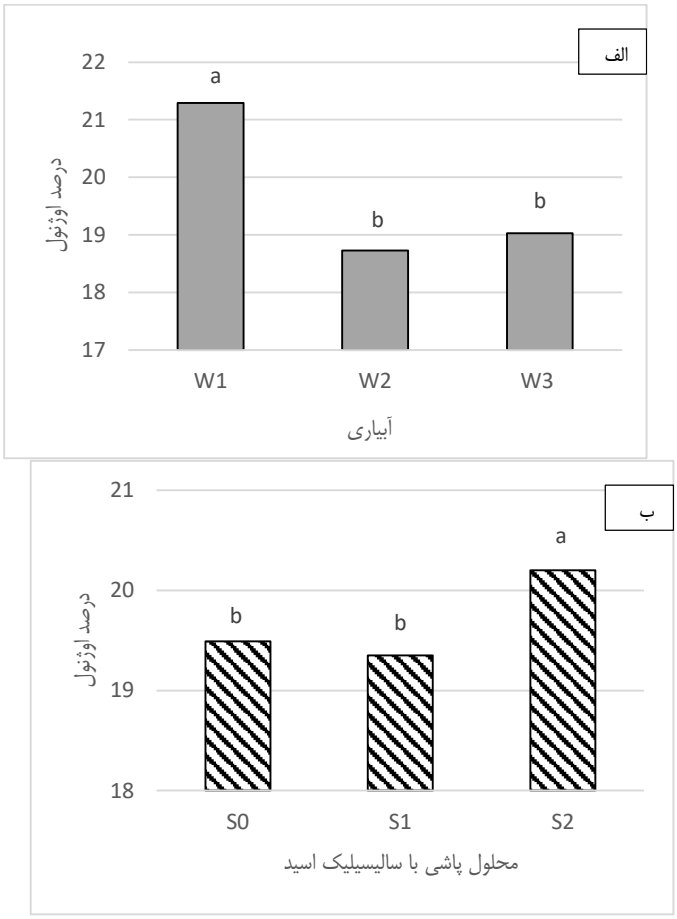
درصد ترکیبات اسانس

تجزیه نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آزمایشی بر ترکیبات ۱ و ۸- سینئول، استراگول و اوژنول در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثرات متقابل تیمارها فقط در استراگول معنی‌دار شد (جدول ۴). نتایج نشان داد که بالاترین مقدار ۱و ۸-سینئول در شرایط تنش خشکی (W2 و W3؛ به ترتیب به میزان ۱۹/۸۲ و ۲۰/۵۵ درصد) حاصل گردید (شکل ۴. الف)، غلظت بالای اسید سالیسیلیک (S2) نیز به طور معنی‌داری مقدار این ترکیب را در اسانس ریحان مقدس افزایش داد (۲۰/۷۴ درصد). بالاترین مقدار استراگول از گیاهانی استخراج شد که تحت تاثیر تیمارهای S2W1 و S2W2 (به ترتیب ۱۳/۴ و ۱۳/۷۶ درصد) بودند در حالیکه کمترین مقدار استراگول از تیمار S0W1 و به مقدار ۱۰/۰۶ درصد شناسایی گردید (جدول ۳).



شکل ۴. تاثیر تنش خشکی (الف) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (ب) بر درصد ۱و ۸-سینئول در اسانس ریحان مقدس
مقادیر ستون های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشند. (منبع: یافته های تحقیق)

در خصوص اوژنول، تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار مقدار این ترکیب شد. بالاترین درصد اوژنول از گیاهان تحت تیمار W1 و به میزان ۲۱/۲۹ درصد گزارش شد(شکل ۵. الف). کاربرد غلظت بالای اسید سالیسیلیک نیز توانست مقدار اوژنول را افزایش دهد، به طوری که با کاربرد تیمار S2 ، مقدار اوژنول اسانس ریحان مقدس به ۲۰/۲۰ درصد رسید (شکل ۵. ب).



شکل ۵. تاثیر تنش خشکی (الف) و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (ب) بر درصد اوژنول در اسانس ریحان مقدس
مقادیر ستون های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشند. (منبع: یافته های تحقیق)

بحث

در این مطالعه تاثیر تنش کم آبیاری و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر رشد، نمو و میزان مواد موثره گیاه ریحان مقدس بررسی گردید. نتایج نشان داد که با کاهش آبیاری فرایند رشد این گیاه کند می گردد. رشد رویشی گیاهان بر اثر تقسیم سلولی، بلند شدن سلول‌ها و تمایز سلولی اتفاق می‌افتد که این فرایندها خود تحت کنترل عوامل مختلف از جمله دسترسی به آب، قرار دارند (Farhoudi, 2013). کاهش رشد و نمو گیاهان در شرایط کمبود آب، در بسیاری گیاهان دارویی دیگر نیز گزارش شده است (Abbaszadeh *et al*., 2020; Ghilavizadeh *et al*., 2019; Kordi *et al*., 2013). کاهش شاخص-های رشدی ریحان مقدس در شرایط خشکی، ممکن است به دلیل کاهش مقدار کلروفیل، کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش تقسیم سلولی اتفاق بیفتد. مقدار کلروفیل یکی از صفات فیزیولوژیکی ضروری است که مستقیما روی قابلیت فتوسنتز گیاه تاثیر می‌گذارد. در پژوهش حاضر مشاهده شد که با افزایش تنش خشکی، مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی کاهش پیدا کردند. مطالعات دیگر نیز ارتباط مستقیم کاهش آب آبیاری و محتوای کلروفیل برگ را گزارش کرده‌اند (Afkari, 2018; Guo *et al*., 2016). کاهش مقدار کلروفیل، احتمالا به دلیل ناپایداری کمپلکس‌های پروتئینی و افزایش تخریب کلروفیل به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های تخریب کننده کلروفیل (کلروفیلاز) است که بر تجزیه کلروفیل در شرایط خشکی تاثیر دارند (Kalamartzis *et al*., 2020). محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک، تاثیر منفی تنش خشکی بر فاکتورهای رشدی گیاه (وزن تر و خشک) و مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی را به طور معنی‌داری کاهش داد. اثر اسید سالیسیلیک روی رشد گیاه، می‌تواند به تغییرات در وضعیت هورمونی یا بهبود فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای گیاه مرتبط باشد. با این وجود، تأثیر کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک بر رشد

گیاه به عوامل دیگری نظیر، گونه گیاهی، مرحله رشد و غلظت این تنظیم‌کننده رشد نیز بستگی دارد (Vicente & Plasencia, 2011). افزایش شاخص‌های رشدی گیاهان تحت تنش خشکی در پاسخ به اسید سالیسیلیک، ممکن است با القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی مرتبط باشد که گیاه را از آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. علاوه بر این، اسید سالیسیلیک رشد و تقسیم سلولی و بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی درون گیاه را نیز تنظیم کرده و باعث سازگاری گیاهان با تنش‌های محیطی می‌شود (Jalal *et al*., 2012). در این زمینه، گزارش مشابهی در مورد گیاه ریحان منتشر شده است (Damalas, 2019). همچنین ایجاد مقاومت چندگانه با کاربرد اسید سالیسیلیک در ریحان، گوجه فرنگی و لوبیا نیز گزارش شده است (Damalas, 2019; Senaratna *et al*., 2000). اسید سالیسیلیک قابلیت جلوگیری از کاهش وزن خشک گیاهان در شرایط تنش خشکی را دارد و با استفاده از این ماده می‌توان محصول بیشتری برداشت کرد. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک از طریق کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و همچنین از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های سنتز کننده کلروفیل، تخریب کلروفیل را در شرایط تنش، کاهش می‌دهد. گزارش شده است که محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش خشکی به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و اسید سالیسیلیک، می‌تواند این اثر منفی را با جابجایی منابع نیترات درون سلولی یا افزایش بیوسنتز رنگدانه کاهش دهد. شرایط خشکی بسیار شدید به دلیل کاهش فعالیت روبیسکو و کاهش تبادل گاز، باعث محدود شدن فتوسنتز می‌گردد (Mohammadi *et al*., 2017; Shi *et al*., 2006).

RWC برگ به عنوان یک شاخص قابل اعتماد برای اندازه‌گیری میزان حساسیت گیاهان به کم آبی استفاده می‌شود. در این تحقیق با افزایش تنش خشکی، مقدار RWC کاهش یافت که با نتایج گزارش شده توسط Kordi *et al*. (2013) و Damalas (2019) در گیاه ریحان مطابقت دارد. در شرایط تنش خشکی، گیاه ابتدا تلاش می‌کند از طریق تنظیم تعادل بین جذب آب توسط ریشه‌ها و از دست دادن آب توسط برگ‌ها، از پتانسیل کم آب جلوگیری کند. به طور معمول گیاهان با بستن روزنه‌ها، خروج آب از گیاه را محدود می‌کنند که در نتیجه این فرایند، سرعت تعرق برگ کاهش می‌یابد (Damalas, 2019). نحوه عمل اسید سالیسیلیک تا حد زیادی به گونه‌های گیاهی، شرایط محیطی و غلظت این ماده بستگی دارد. در این مطالعه، محلول‌پاشی با این فیتوهورمون، تاثیر مثبتی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی ریحان مقدس در هر دو شرایط خشکی و شاهد داشت. این خصوصیت ممکن است به تاثیر آن بر هدایت روزنه‌ای و افزایش قابل توجه RWC و رنگدانه‌های فتوسنتزی مربوط باشد. نقش محافظتی اسید سالیسیلیک در برابر عوامل تنش‌زا ممکن است به شکل القای ظرفیت فتوسنتزی بالاتر و سازگاری بیشتر با تنش‌های غیرزیستی آشکار شود (Janda *et al*., 2014; Askari and Ehsanzadeh, 2015). عملکرد دستگاه فتوسنتزی ریحان مقدس، احتمالاً تحت تاثیر اسید سالیسیلیک افزایش یافته است که به نوبه خود بیوسنتز اسمولیت‌هایی مانند پرولین را تحت تنش خشکی به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. این مواد می‌توانند فشار اسمزی سیتوپلاسم را افزایش داده و پتانسیل آبی بافت‌های گیاهی را افزایش دهند. افزایش RWC برگ و محتوای کلروفیل ریحان مقدس در شرایط خشکی با افزایش غلظت محلول اسید سالیسیلیک با داده های گزارش شده توسط سایر محققان مطابقت دارد (Hashemi *et al*., 2012, Askari and Ehsanzadeh, 2015).

مطابق نتایج به دست آمده، مقادیر بالایی از تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک، دیده شد. اسیدآمینه پرولین یک ترکیب محلول در آب است که در تنظیم اسمزی سلول و همچنین حفاظت از سلول در برابر خشکی نقش دارد. تنش خشکی از طریق افزایش بیان آنزیم‌های سنتز کننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب پرولین باعث افزایش میزان این اسید آمینه در گیاه می‌شود (Verslues and Sharma, 2010). پرولین، تحت شرایط تنش می‌تواند عملکردهای متفاوتی مانند ایجاد تعادل اسمزی، حفاظت از ساختار پروتئینی و غشاء سلولی، تثبیت ساختارهای درون سلولی و حذف رادیکال های آزاد را داشته باشد (Kamrava *et al*., 2017).

مطابق نتایج به دست آمده، با افزایش شدت خشکی مقدار اسانس پیکر رویشی این گیاه افزایش یافت و کاربرد اسید سالیسیلیک نیز در مقایسه با شاهد، توانست درصد اسانس را افزایش دهد. مطالعات متعدد گزارش کرده‌اند که سنتز متابولیت‌های

ثانویه، مانند اسانس، در شرایط خشکی افزایش می‌یابد (Bannayan *et al*., 2008). خشکی همچنین بر مقدار ترکیبات اسانس مانند ۱و ۸- سینئول و استراگول نیز تاثیر افزاینده و بر مقدار اوژنول اثر کاهنده داشته است. کاهش میزان اوژنول در شرایط خشکی در گیاه ریحان نیز گزارش شده است (Rastogi *et al*, 2019; Nguyen *et al*, 2022). مشخص شده است که در گیاه رزماری، با افزایش تنش خشکی درصد کامفن[1] افزایش و درصد ایزوپرنوید[2] کاهش پیدا می‌کند (Dehghani bidgoli, 2018). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که واکنش اجزای اسانس به سطوح مختلف تنش متغیر است و می‌توان از شدت تنش در مدیریت کیفی گیاهان به ویژه در ریحان مقدس استفاده کرد. محلول‌پاشی با غلظت بالای اسید سالیسیلیک سبب افزایش معنی‌دار ۱ و ۸- سینئول، استراگول و اوژنول در اسانس ریحان مقدس گردید. دخالت مستقیم و غیرمستقیم اسید سالیسیلیک در سنتز مواد موثره، در بسیاری از گیاهان دارویی گزارش شده است که با نتایج تحقیق ما مطابقت دارد (Khan *et al*., 2015; Su *et al*., 2018; Abbaszadeh *et al*., 2020).

تنش خشکی و اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر محتوای فنول کل ، محتوای فلاونوئیدکل و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد داشتند. مشخص شده است که اسید سالیسیلیک در غلظت‌های خاص، می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را کاهش دهد. مکانیسم‌هایی که نقش اساسی در بهبود تحمل خشکی ناشی از اسید سالیسیلیک ایفا می‌کنند، شامل برهمکنش بین اسید سالیسیلیک و اسمولیت‌ها، برهمکنش بین اسید سالیسیلیک و عناصر غذایی، دخالت اسید سالیسیلیک در پیام رسانی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و تنظیم آنتی اکسیدان‌ها، برهمکنش بین اسید سالیسیلیک و متابولیت‌های ثانویه اصلی، و تعامل بین اسید سالیسیلیک و سایر هورمون‌های گیاهی می‌باشد (Khan *et al*., 2015; Abbaszadeh *et al*., 2020). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تنش خشکی به تنهایی باعث افزایش معنی‌دار محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی در ریحان مقدس شد و محلول‌پاشی با غلظت بالای اسید سالیسیلیک نیز این روند افزایشی را تشدید کرد به طوری که بیشترین مقدار ترکیبات فنولی از گیاهانی استخراج شد که تحت تنش خشکی شدید بودند و با غلظت بالای اسید سالیسیلیک محلول‌پاشی شده بودند. نتایج بسیاری از آزمایش‌ها و مطالعات ثابت کرده‌اند که گیاهان تحت تنش خشکی، غلظت‌های بالاتری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را تولید می‌کنند زیرا برای محافظت در برابر تنش‌های مختلف به این ترکیب‌ها نیاز دارند (Ozturk *et al*., 2004; Dehghani Bidgoli, 2018; Osama *et al*., 2019). همچنین گزارش شده است که اسید سالیسیلیک در بیوسنتز بسیاری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دخیل است و کاربرد بیرونی آن باعث افزایش سنتز بسیاری از این ترکیبات می‌شود (Osama *et al*., 2019; Siboza *et al*., 2014).

یافته‌های مطالعات قبلی نشان‌دهنده نقش مثبت کاربرد اسید سالیسیلیک در افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH بود، که با نتایج حاصل از تحقیق ما مطابقت دارد (Osama *et al*., 2019). این افزایش را می‌توان با افزایش ترکیبات فنولی توجیه کرد. تحقیقات نشان داده است که ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند و با افزایش ترکیبات فنولی در برگ ماریتیغال، خواص آنتی اکسیدانی به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد (Estaji and Niknam, 2020).

نتیجه‌گیری

تأثیر نامطلوب کمبود آب بر کمیت و کیفیت محصول ریحان مقدس را می‌توان با کاربرد SA که قابلیت حفاظت از گیاهان در برابر اثرات خشکی را دارد، کاهش داد. اثر معنی‌دار اسید سالیسیلیک بر گیاهان تحت تنش آبی، با بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی از طریق افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و حفظ آب در بافت‌های گیاهان همراه بود. یافته‌ها تأیید می‌کنند که اسید سالیسیلیک می‌تواند رشد ریحان مقدس را تنظیم کند و در شرایط دسترسی محدود به آب امکان رشد بهتر را به گیاه بدهد. لذا، می‌توان نتیجه گرفت که SA نه تنها واکنش دفاعی فوری گیاه را القا می‌کند، بلکه تأثیر طولانی‌مدتی بر رشد و

1Camphene
2Isoprenoid

متابولیسم گیاه دارد. چنین تأثیری گیاه را برای شرایط استرس آتی نیز آماده می‌کند. بنابراین، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار، می‌تواند به عنوان یک راهکار اقتصادی برای افزایش عملکرد ریحان مقدس در شرایط خشکی در نظر گرفته شود.

منابع

افکاری، احمد (۱۳۹۶). تأثیر تنش خشکی و مقادیر کود نیتروژنه بر میزان و عملکرد اسانس و برخی ویژگیهای فیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان. *دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۳۳(۶)، ۱۰۴۷-۱۰۵۹.

کامروا، سمیه؛ بابائیان، نادعلی و باقری، نادعلی (۱۳۹۶). تاثیر تنش خشکی بر صفات کلروفیل و پرولین در ژنوتیپ‌های مختلف سویا. *پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی*، ۹ (۲۳)، ۹۵-۱۰۵.

REFERENCES

Abbaszadeh, B., Layeghhaghighi, M., Azimi, R., & Hadi, N. (2020). Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 144, 111893. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111893.

Afkari, A. (2018). Effects of drought stress and nitrogen fertilizer rate on some physiological characteristics, essential oil percentage, and yield of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 33(6), 1047-1059. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2018.112686.2085. (In Persian)

Asghari, B., Mafakheri, S., Zarrabi, M.M., Erdem, S.A., Orhan, I.E., & Bahadori, M.B. (2019). Therapeutic target enzymes inhibitory potential, antioxidant activity, and rosmarinic acid content of *Echium amoenum*. *South African Journal of Botany*, 120, 191-197. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.05.017.

Asghari, B., Mafakheri, S., Zengin, G., Dinparast, L. & Bahadori, M.B. (2020). In-depth study of phytochemical composition, antioxidant activity, enzyme inhibitory and antiproliferative properties of *Achillea filipendulina*: a good candidate for designing biologically-active food products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 2196-2208. https://doi.org/10.1007/s11694-020-00466-5.

Askari, E. & Ehsanzadeh, P. (2015). Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37 (4), 1-14. https://doi.org/10.1007/s11738-014-1762-y.

Bahadori, M.B., Valizadeh, H., Asghari, B., Dinparast, L., Bahadori, S. & Moridi Farimani, M. (2016). Biological activities of *Salvia santolinifolia* Boiss. A multifunctional medicinal plant. *Current Bioactive Compounds*, 12(4), 297-305. https://doi.org/10.2174/1573407212666160426161112.

Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L., & Rastgoo, M. (2008). Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*, 27(1), 11-16. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.05.002.

Bates, L., Waldren, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

Damalas, C.A. (2019). Improving drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum*) with salicylic Acid. *Scientia Horticulturae*, 246, 360-365. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.005.

Dehghani Bidgoli, R. (2018). Effect of drought stress on some morphological characteristics, quantity and quality of essential oil in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Advancement in Medicinal Plant Research*, 6 (3), 40–45. https://doi.org/10.30918/AMPR.63.18.019.

Dere, Ş., Gunes, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some Algae species using different solvents. *Turkish Journal of*

Botany, 22(1), 13-18.

Estajia, A. & Niknam, F. (2020). Foliar salicylic acid spraying effect on growth, seed oil content, and physiology of drought-stressed *Silybum marianum* L. plant. *Agricultural Water Management*, 234, 106-116. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106116.

Farhoudi, R. (2013). Effect of drought stress on chemical constituents, photosynthesis and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Journal of Medicinal Plants and By-product*, 2(1), 17-22. https://doi.org/10.22092/JMPB.2013.108486

Ghilavizadeh, A., Hadidi, W., Zakerin, H.M., Valadabadi, S.A.R., Sayfzadeh, S & Yousefi, M. (2019). Influence of Salicylic Acid on Growth, Yield and Macro-elements Absorption of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under Water Stress. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 1, 67-75. https://doi.org/10.22092/JMPB.2019.119386

Hashmi, N., Khan, M.M.A., Moinuddin, A., Idrees, M., & Aftab, T. (2012). Exogenous salicylic acid stimulates physiological and biochemical changes to improve growth, yield and active constituents of fennel essential oil. *Plant Growth Regulation*, 68, 281–291. https://doi.org/10.1007/s10725-012-9716-0.

Hussain, H.A., Hussain, S., Khaliq, A., Ashraf, U,. Anjum, S.A., Men, S. & Wang, L. (2018). Chilling and drought stresses in crop plants: Implications, cross talk, and potential management opportunities. *Frontiers in Plant Science*, 9, 393. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00393

Jalal, R., Bafeel, S. & Moftah, A. (2012). Effect of salicylic acid on growth, photosynthetic pigments and essential oil components of Shara (*Plectranthus tenuiflorus*) plants grown under drought stress conditions. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 2(6), 252-260. https://doi.org/10.3923/jbs.2019.372.380.

Janda, T., Gondor, O.K., Yordanova, R., Szalai, G. & Pa´l, M. (2014). Salicylic acid and photosynthesis: signaling and effects. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1-10. https://doi.org/10.1007/s11738-014-1620-y.

Joseph, B., Jini, D. & Sujata, S. (2010). Insight into the role of salicylic acid on plant growth under salt environment. *Asian Journal of Crop Science*, 2, 226–235. https://doi.org/10.3923/ajcs.2010.226.235.

Kalamartzis, I., Menexes, G., Georgiou, P. & Dordas, Ch. (2020). Effect of water stress on the physiological characteristics of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Agronomy*, 10, 1-20. https://doi.org/10.3390/agronomy10071029.

Kamrava, S., Babaeian Jolodar, N., & Bagheri, N. (2017). Evaluation of Drought Stress on Chlorophyll and Proline Traits in Soybean Genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 9 (23), 95-105. http://dx.doi.org/10.29252/jcb.9.23.95. (In Persian)

Khan, M.I.R., Fatma, M., Per, T.S., Anjum, N.A. & Khan, N.A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1–17. https://doi.org/10.3923/ajcs.2010.226.235.

Kordi, S., Saidi, M. & Ghanbari, F. (2013). Induction of drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) by salicylic acid. *International Journal of Agricultural and Food Research*, 2(2), 18-26. https://doi.org/10.24102/ijafr.v2i2.149.

Kulak, M., Jesús, Jorrín-Novo, V., Romero-Rodriguez, M., Yildirim, ED., Gul, F. & Karaman, S. (2022). Seed priming with salicylic acid on plant growth and essential oil composition in basil (*Ocimum basilicum* L.) plants grown under water stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 161, 113225. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113235.

Milenkovic, L., Stanojevic, J., Cvetkovic, D., Stanojevic, L., Lalevic, D., Sunic, L., Fallik, E. & Ilic, Z.S. (2019). New technology in basil production with high essential oil yield and quality. *Industrial Crops and Products*, 140, 111718. http://doi.org/10.1016/j.

Minhas, P.S., Rane, J., & Pasala, R.K. (2017). Abiotic stresses in agriculture: An overview. *Abiotic stress management for resilient agriculture*, Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 3–8. http://doi.org/10.1007/978-981-10-5744-1_1

Mohammadi, B., Rezayian, M., Ebrahimzadeh, H., Hadian, J. & Mirmasoumi, M. (2017). Positive effects of salicylic acid on some biochemical and physiological parameters of *Aloysia citrodora* under drought stress. *Progress in Biological Sciences*, 7(2): 147-157. https://doi.org/10.22059/PBS.2019.288345.1336.

Nguyen, T., Choi, W. S., Lee, JH., & Cheong, J. (2022). Biosynthesis of essential oil compounds in *Ocimum tenuiflorum* is induced by abiotic stresses. *Plant Biosystems - An International Journal*, 156, 353-357. https://doi. DOI: 10.1080/11263504.2020.1857870

Osama, S., El Sherei, M., Al-Mahdy, D., Bishr, M. & Salama, O. (2019). Effect of salicylic acid foliar spraying on growth parameters, γ-pyrones, phenolic content and radical scavenging activity of drought stressed *Ammi visnaga* L. plant. *Industrial Crops and Products*, 134, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.035.

Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A. & Gurbuz, B. (2004). Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officialis* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 36(4), 787-792.

Rastogi, S., Shah, S., Kumar, R., Vashisth, D., Akhtar, M.Q., Kumar, A., Dwivedi, U.N. & Shasany, A.K. (2019). *Ocimum* metabolomics in response to abiotic stresses: Cold, flood, drought and salinity. *Plos One*, 14(2), 36-49. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0210903

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, 22-38. http://doi.org/10.1186/s12870-018-1484-1

Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. *Plant Growth Regulation*, 30, 157-161. https://doi.org/10.1023/A:1006386800974.

Shahzad, S.M., Arif, M.S., Ashraf, M, Abid, M, Ghazanfar, M.U., Riaz, M., Yasmeen, T. & Zahid, M.A. (2015). Alleviation of abiotic stress in medicinal plants by PGPR, In D. Egamberdieva. *Plant-growth promoting rhizobacteria (PGPR) and medicinal plants* (Ed. II) Springer International Publishing.

Sharma, P. (2014). Salicylic acid: a novel plant growth regulator - role in physiological processes and abiotic stresses under changing environments. In: Tuteja, N., Gill, S.S. (Eds.), *Climate change and plant Abiotic stress tolerance*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim, Germany.

Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q. & Qian, Q. (2006). Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzyme activity in seedlings *Cucumis sativa* L. *Plant Growth Regulation*, 48, 127-135. https://doi.org/10.1007/s10725-005-5482-6.

Siboza, I., Bertling, A. & Oduor, O. (2014). Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *Journal of Plant Physiology*, 171(18), 1722-1731. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.05.012.

Verslues, P. E. & Sharma, S. (2010). Proline metabolism and its implications for plant environment interaction. The *Arabidopsis Book*, 8, 140.

Singh, D. & Chaudhuri, P.K. (2018). A review on phytochemical and pharmacological properties of Holy basil (*Ocimum sanctum* L.). *Industrial Crops and Products*, 118, 367-382. http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.048

Vicente, R. & Plasencia, J. (2011). Salicylic acid beyond defense: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62 (10), 3321–3338. https://doi.org/10.1093/jxb/err031.