

تأثیر منابع کربنی اتانول و متانول بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیک گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officianlis* L.)

وحید اکبرپور^{۱*}، جواد طاهری مقدس^۲ و محمدعلی بهمنیار^۳

^۱ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

^۲ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری، ایران

^۳ گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۱/۱۷)

چکیده:

به منظور بررسی تأثیر منابع مختلف کربنی (اتانول و متانول) بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officianlis* L.)، آزمایشی گلدانی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. تیمارهای محلول‌پاشی شامل غلظت‌های مختلف صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد حجمی از اتانول و متانول بود. نتایج نشان داد که اتانول ۱۵ درصد بیشترین تأثیر را بر تعداد برگ در بوته و فلاونوئید کل داشت. هر چه غلظت اتانول از ۱۵ درصد حجمی افزایش یافت از میزان فلاونوئید کاسته شد، به طوری که در غلظت ۴۵ درصد اتانول، اثرات بازدارنده آن ظاهر شد. بیشترین ارتفاع گیاه و درصد پروتئین به ترتیب در تیمار ۱۵ درصد متانول و تیمار ۴۵ درصد اتانول حاصل شد. همچنین بالاترین میزان درصد و عملکرد اسانس نیز از تیمار متانول ۴۵ درصد به دست آمد. کاربرد تیمارهای تلفیقی ۱۵ درصد اتانول و ۴۵ درصد متانول، سبب تولید بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل گردید. بنابراین استفاده از ترکیبات الکلی نظیر متانول و اتانول یکی از راهکارهای مناسب در بالا بردن میزان عملکرد و کیفیت گیاه دارویی بادرنجبویه می‌باشد.

کلمات کلیدی: اسانس، بادرنجبویه، پروتئین، محلول‌پاشی، هیدروالکل‌ها.

مقدمه

عنوان ضد اسپاسم، ضد نفخ، پانسمان زخم و در حال حاضر به عنوان آرام‌بخش، خواب‌آور، ملین و مسکن سردردهای ناشی از استرس کاربرد دارد (Blumenthal et al., 2000). از نظر ترکیبات شیمیایی در اندام سبز این گیاه موادی مانند اولئیک اسید، سیترال، ژرانیول و رزماریک اسید وجود دارد. این گیاه دارای اسانس روغنی فرار است که به عنوان منبع غنی از سیترال شناخته می‌شود. از دیگر ترکیبات موجود در این گیاه

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. گیاهی معطر و علفی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است. سرزمین اصلی این گیاه نواحی دریای مدیترانه، جنوب و مرکز اروپا، آسیای صغیر و ایران است. طبق آمار سال ۱۳۸۷، بیشترین سطح زیر کشت این گیاه در ایران مربوط به استان آذربایجان غربی و پس از آن استان مازندران می‌باشد. این گیاه در پزشکی سنتی به

می‌توان لیمونن و فلاونوئیدها را نام برد. به دلیل ارزش اقتصادی و تجاری ترکیبات استخراج شده از بادرنجبویه، زراعت و کشت آن به صورت تجاری در سطح وسیع افزایش یافته است (Joshi et al., 2004).

امروزه در تغذیه گیاهی به منظور بهینه‌سازی در مصرف کودهای شیمیایی و کاهش خطرات زیست‌محیطی، از روش محلول‌پاشی استفاده می‌شود. با محلول‌پاشی، عناصر به سرعت به گیاه منتقل شده و در اختیار شاخه، برگ و یا میوه قرار می‌گیرند. براساس بررسی‌های انجام شده، افزایش عملکرد در واحد سطح یکی از مهم‌ترین مواردی است که توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. اولین شرط جهت دستیابی به عملکرد بالا، تولید زیاد ماده خشک در واحد سطح می‌باشد، زیرا حدود ۹۰ درصد وزن خشک گیاهان ناشی از اسیمیلاسیون CO_2 توسط فتوسنتز است. بنابراین راه‌هایی که باعث افزایش تثبیت CO_2 در گیاهان زراعی می‌شوند، می‌توانند به عنوان راهکارهایی مناسب جهت افزایش عملکرد آن‌ها مورد توجه قرار گیرند (عمارلو، ۱۳۹۲). در سال‌های اخیر مطالعات به سمت استفاده از ترکیب جدیدی که در داخل گیاه سنتز می‌شود و در مراحل اولیه از دوره رشد گیاه جهت افزایش غلظت CO_2 و بالا بردن راندمان فتوسنتزی در داخل گیاه استفاده می‌شود، معطوف گردیده است، از جمله این ترکیبات، اتانول و متانول می‌باشند که به ترتیب جز الکل‌های دو و تک کربنی هستند (Nonomura and Benson, 1992). محلول‌پاشی این الکل‌ها سرعت تنفس و کارایی تبدیل کربن حاصل از تنفس را افزایش می‌دهد، در نتیجه سرعت رشد گیاه نیز با افزایش سرعت و راندمان تنفس، افزایش می‌یابد (Hansen et al., 1994; Fall and Benson, 1996). اتانول یا الکل اتیلیک (اتیل الکل) مایعی قابل احتراق و بی‌رنگ با فرمول شیمیایی C_2H_5OH می‌باشد. متانول مایعی شفاف، بی‌رنگ و بسیار قطبی با فرمول شیمیایی CH_3OH است (نورافکن و پویانفر، ۱۳۹۶). اتانول و متانول ترکیبات آلی فرار هستند که وجودشان درون گیاه علاوه بر اثر مستقیم بر رشد آن، از راه فعالیت باکتری‌های متیلوتروف (*Methylobacterium spp*) بر رشد گیاهان تأثیر

قابل توجهی می‌گذارد. این باکتری‌ها با دریافت این ترکیبات از برگ‌ها، آن را استفاده کرده و هورمون‌هایی مانند اکسین و سیتوکینین تولید کرده و در اختیار گیاه قرار می‌دهند (رمرودی و همکاران، ۱۳۹۶؛ Abanda et al., 2006). به‌طورکلی اتانول و متانول ترکیبات تأثیرگذار بر سوخت‌وساز گیاهان می‌باشند که سبب تنظیم سرعت فرآیندهای سوخت و سازی گیاه، افزایش رشد و افزایش فعالیت نورساختی و کاهش تنفس نوری می‌شوند (Downie et al., 2004). پژوهش‌ها نشان داده که محلول‌پاشی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinaceae sp.*) با استفاده از تیمارهای هیدروالکلی اتانول و متانول اثری توجیه‌پذیر در استفاده از این فناوری در افزایش عملکرد زراعی این گیاه دارد (خسروی، ۱۳۹۰).

این تحقیق به منظور بررسی اثر ترکیبات هیدروالکلی اتانول و متانول بر خصوصیات کیفی و کمی گیاه دارویی بادرنجبویه و تعیین بهترین غلظت این ترکیبات در راستای پیشبرد اهداف کشاورزی پایدار صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر منابع مختلف کربنی (اتانول و متانول) بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officianalis L.*)، آزمایشی گلدانی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. خاک گلدان نیز مخلوطی از خاک مزرعه و کود دامی بود. در این پژوهش تیمارهای محلول‌پاشی شامل غلظت‌های مختلف صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد حجمی از اتانول و متانول بود که در سه مرحله برای هر یک از این ترکیبات صورت گرفت. محلول‌پاشی تیمار شاهد نیز با آب مقطر انجام شد. مرحله اول محلول‌پاشی یک ماه پس از کشت، و دو مرحله بعدی در طی فصل رشد رویشی گیاه با فواصل ۱۴ روز انجام شد. هر بار حدود ۲۰ میلی‌لیتر از محلول مورد نظر، محلول‌پاشی شد (نورافکن و کلانتری، ۱۳۹۵).

مرحله برداشت نیز سه ماه پس از کشت و زمانی که گل‌ها

واحد سطح به دست آمد. جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل نیز از روش Ebrahimzadeh و همکاران (۲۰۱۰) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها، با برنامه آماری SAS (نسخه ۹/۲) انجام شد و میانگین تیمارها توسط آزمون LSD مورد مقایسه قرار گرفت. رسم شکل‌ها نیز توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده اتانول و متانول بر ارتفاع گیاه بادرنجبویه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل اتانول و متانول بر ارتفاع گیاه اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

جدول مقایسه میانگین اثر ساده اتانول بر ارتفاع گیاه (جدول ۲) نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه بادرنجبویه مربوط به تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول (۴۶/۹۵ سانتی‌متر) بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای ۳۰ و ۴۵ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۳۷/۱۶ سانتی‌متر) بود. با توجه به اینکه بین اعمال تیمار ۱۵ و ۳۰ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری دیده نشد، بنابراین اعمال تیمار اتانول تا غلظت ۳۰ درصد حجمی بر ارتفاع گیاه بی‌فایده و حتی هزینه‌بر است. با افزایش غلظت اتانول به ۴۵ درصد حجمی از اثرات تحریک‌کنندگی آن بر ارتفاع گیاه کاسته شد (جدول ۲). جعفری مرندی و مجد (۱۳۸۷) اظهار داشتند که کار بردن تیمارهای سبک الکلی (اتانول ۳ درصد) باعث تسریع رشد گیاهان و افزایش طول و ضخامت ساقه در گل‌های شاخه بریده می‌شود که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد.

جدول مقایسه میانگین اثر ساده متانول بر ارتفاع گیاه نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه بادرنجبویه مربوط به تیمار ۱۵ درصد حجمی متانول (۴۷/۷۹ سانتی‌متر) بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای متانول در غلظت‌های ۳۰ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۳۶/۹۵ سانتی‌متر) بود که از لحاظ آماری با تیمارهای متانول در غلظت‌های ۴۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری

به رشد کامل رسیده‌اند، صورت گرفت. عملکرد بیولوژیک از طریق محاسبه وزن خشک گیاه در واحد سطح به دست آمد. اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) با استفاده از روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1992) صورت گرفت. براساس این روش، ابتدا ۰/۱ گرم برگ با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی سائیده شد و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس جذب محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۴ نانومتر قرائت شد. میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل از طریق معادله‌های زیر برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ (A: میزان جذب در طول موج مشخص) محاسبه گردید.

$$\text{Chl a} = 12.21(A_{664}) - 2.79 (A_{647})$$

$$\text{Chl b} = 21.21(A_{647}) - 5.1(A_{664})$$

$$\text{Total Chl} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

به منظور سنجش پروتئین، به ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۵ مولار با pH معادل ۶/۸، ۲ گرم SDS افزوده و حل شد. ۲۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به نمونه‌های تازه برگ در دمای ۴ درجه سانتیگراد افزوده شد. سپس محلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید. به ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره فوق‌اضافه و پس از ۳۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه، جذب عصاره فوق در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ محاسبه گردید. با حل نمودن ۱ میلی‌گرم پودر سرم آلبومین گاوی (BSA) با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر، محلول استاندارد پروتئین تهیه شد (Bradford, 1976). از سرشاخه‌هایی که در مجاورت جریان هوای آزاد و سایه خشک شد، ۱۰ گرم انتخاب و پس از خرد کردن نمونه‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب به وسیله کلونجر اقدام به استخراج اسانس گیاه شد. مدت زمان استخراج اسانس برای تمامی نمونه‌ها به طور یکسان ۲/۵ ساعت بود (عباس‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵). عملکرد اسانس نیز از طریق محاسبه مقدار درصد اسانس در

جدول 1- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر محلول پاشی ترکیبات اتانول و متانول بر ویژگی های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه

میانگین مربعات (MS)										
منابع تغییرات	df	ارتفاع گیاه	تعداد برگ در بوته	عملکرد بیولوژیک	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	فلاونوئید	درصد اسانس	عملکرد اسانس پروتئین
اتانول (E)	3	249/9*	805*	258/4**	202/5**	88/59**	557/1**	32/82**	0/022*	3277**
متانول (M)	3	282/9*	1104/6**	188/6**	104/9**	36/05**	246/7**	23/39**	0/065**	4411/3**
اتانول × متانول (E × M)	9	13/61 ^{ns}	158 ^{ns}	33/47*	21/07**	11/12**	44/68**	2/84 ^{ns}	0/004 ^{ns}	513/6 ^{ns}
خطای آزمایش	30	79/42	220/3	16/14	0/38	3/21	6/58	2/59	0/006	388/8
ضریب تغییرات	-	20/90	20/18	26/63	11/76	25/87	11/29	15/13	21/49	19/21

*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد و غیر معنی دار

جدول 2- مقایسه میانگین اثر ساده محلول پاشی ترکیبات اتانول و متانول بر برخی ویژگی های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه

تیمارهای آزمایشی	ارتفاع گیاه (سانتی متر)	تعداد برگ در بوته	فلاونوئید (mg quercetin/g FW)	درصد اسانس	عملکرد اسانس (میلی گرم در بوته)
اتانول (درصد حجمی)					
صفر (آب مقطر)	37/16 ^b	71/75 ^{ab}	10/52 ^b	0/32 ^b	26/29 ^c
15	46/95 ^a	82/33 ^a	12/47 ^a	0/42 ^a	62/20 ^a
30	45/77 ^a	76/91 ^a	8/49 ^c	0/40 ^a	28/64 ^{bc}
45	40/62 ^{ab}	63/08 ^b	11/08 ^b	0/38 ^{ab}	43/12 ^b
متانول (درصد حجمی)					
صفر (آب مقطر)	36/95 ^b	63/66 ^b	8/97 ^b	0/28 ^c	20/61 ^c
15	47/79 ^a	81/66 ^a	10/02 ^b	0/40 ^{ab}	37/51 ^b
30	45/31 ^a	81/83 ^a	11/62 ^a	0/38 ^b	35/64 ^{bc}
45	40/45 ^{ab}	66/91 ^b	11/95 ^a	0/46 ^a	66/49 ^a

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی داری ندارند.

محلول پاشی متانول به علت افزایش غلظت دی اکسید کربن در برگ ها و استفاده از متانول به عنوان یک منبع مستقیم در سنتز اسید آمینه سرین و کاهش هدررفت کربن از طریق تنفس نوری می باشد. گزارش ها حاکی از آن است که محلول پاشی متانول، با افزایش تولید سیتوکینین موجب افزایش تقسیم سلولی، تحریک رشد و افزایش ارتفاع در گیاهان شده است (Mauney and Gerik, 1994).

نداشت (جدول 2). بنابراین می توان استنباط کرد که بیشترین اثر تحریک کنندگی متانول در افزایش ارتفاع تا غلظت 30 درصد حجمی مشاهده شد. Makhdom و همکاران (2002) افزایش ارتفاع گیاه در نتیجه استفاده از متانول را به علت آسیمیلاسیون بیشتر کربن و رقابت بیشتر گیاهان برای دریافت نور دانستند. همچنین نادعلی و همکاران (1389) گزارش کردند که افزایش سرعت رشد و ارتفاع محصول پس از

تعداد برگ در بوته: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده اتانول بر تعداد برگ در بوته بادرنجبویه در سطح احتمال ۵ درصد و اثر متانول بر این صفت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین اثر اتانول بر تعداد برگ در بوته نشان داد که بیشترین تعداد برگ در بوته بادرنجبویه مربوط به تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول (۸۲/۳۳ عدد در بوته) بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای شاهد، ۳۰ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین تعداد برگ در بوته مربوط به تیمار ۴۵ درصد حجمی اتانول (۶۳/۰۸ عدد) بود (جدول ۲).

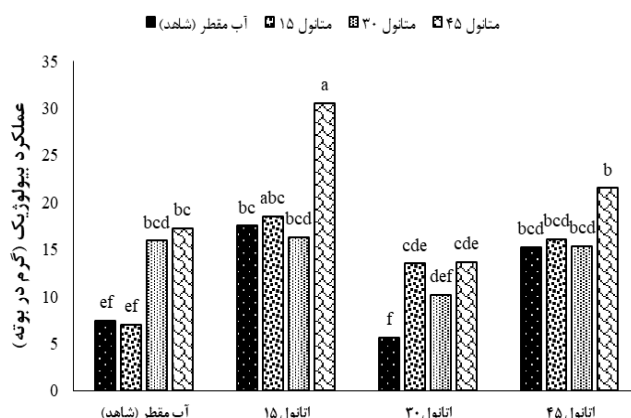
جدول مقایسه میانگین اثر ساده متانول بر تعداد برگ در بوته نشان داد که بیشترین تعداد برگ در بوته مربوط به تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول (۸۱/۸۳ عدد) بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای متانول در غلظت‌های ۱۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین تعداد برگ نیز مربوط به تیمار آب مقطر (۶۳/۶۶ عدد در بوته) بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای متانول در غلظت‌های ۴۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). با توجه به آن می‌توان استنباط کرد که متانول تا غلظت کم (۳۰ درصد حجمی) اثر تحریک‌کننده داشت اما با افزایش غلظت، اثرات مثبت آن کاهش یافت. برخی مطالعات نشان داد که با مصرف متانول سرعت رشد گیاه و نیز تعداد برگ در گیاه بادام زمینی افزایش یافت. متابولیسم متانول منجر به افزایش قندسازی در برگ‌ها می‌شود و این امر سبب افزایش مقدار آماس سلولی بافت و افزایش سرعت آسیمیلیاسیون و رشد در گیاهان تیمار شده با آن می‌گردد (Ramirez et al., 2006). Moradi و Ebadati-Esfahani (۲۰۱۶) با بررسی اثر محلول‌پاشی متانول بر کیفیت و عملکرد گیاه ترخون گزارش کردند که محلول‌پاشی این ترکیب بر تعداد برگ اثر معنی‌داری داشت و بیشترین میانگین این صفت در کاربرد متانول ۴۰ درصد مشاهده شد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت.

عملکرد بیولوژیک: بر اساس نتایج حاصل از جدول

تجزیه واریانس مشخص شد که اثر ساده اتانول و متانول و اثر متقابل اتانول و متانول بر عملکرد بیولوژیک بادرنجبویه به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف اتانول و متانول بر عملکرد بیولوژیک بادرنجبویه نشان داد که بیشترین عملکرد بیولوژیک مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۱۵ و متانول ۴۵ درصد حجمی (۳۰/۵۲ گرم در بوته) و کمترین آن مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۳۰ درصد حجمی و آب مقطر (۵/۵۸ گرم در بوته) بود (شکل ۱).

در شرایط تلفیقی بدون اتانول (آب مقطر) هرچه قدر غلظت متانول افزایش یافت، عملکرد بیولوژیک افزایش یافت. در تیمارهای تلفیقی اتانول ۱۵ درصد حجمی، متانول با غلظت ۱۵ و ۳۰ درصد حجمی اثر تحریک‌کننده معنی‌داری بر این صفت نداشت اما با افزایش غلظت متانول به ۴۵ درصد حجمی عملکرد بیولوژیک افزایش یافت. در شرایط تلفیقی اتانول ۳۰ درصد، غلظت‌های مختلف متانول از لحاظ تأثیر بر عملکرد بیولوژیک اختلاف معنی‌داری نداشتند. در شرایط تلفیقی اتانول ۴۵ درصد حجمی، بیشترین عملکرد بیولوژیک در تیمار ۴۵ درصد متانول بدست آمد.

طبق گزارش Benson و Nonomura (۱۹۹۲) گیاهان تیمار شده با متانول می‌توانند فتوسنتز خالص خود را افزایش دهند و عملکرد خود را بهبود بخشند. آنها همچنین اعلام کردند متانول سبب افزایش راندمان تبدیل کربن می‌شود، در واقع متانول از مولکول دی‌اکسیدکربن کوچکتر است لذا می‌تواند به راحتی توسط گیاهان سه کربنه به عنوان منبع کربن افزایش عملکرد ماده خشک گیاهان مورد استفاده قرار گیرد. متانول با ایجاد تأخیر در پیری برگ‌ها، فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها را تشدید می‌کند و از این راه عملکرد گیاه را افزایش می‌دهد. پژوهش‌های مختلفی حاکی از آن است که عملکرد و رشد در گیاهان سه کربنه تحت تأثیر محلول‌پاشی با متانول افزایش می‌یابد و این امر شاید به این دلیل باشد که متانول به عنوان منبع کربن در این گیاهان محسوب می‌گردد (Abbasian et al., 2016). همچنین گزارش شده است که افزایش آسیمیلیاسیون.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل محلولپاشی اتانول و متانول بر عملکرد بیولوژیک گیاه بادرنجبویه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

افزایش این صفت شد (شکل ۲).

مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل b نشان داد که بیشترین کلروفیل b مربوط به اتانول ۱۵ و متانول ۴۵ درصد حجمی (۱۴/۶۳ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به اتانول ۳۰ درصد حجمی و آب مقطر (۲/۷۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) بود (شکل ۳).

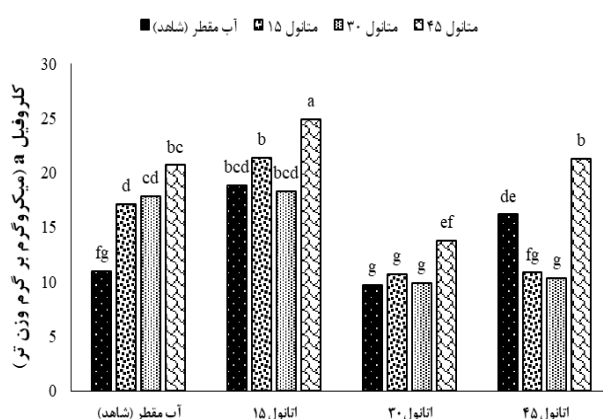
مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل کل نشان داد که بیشترین کلروفیل کل مربوط به اتانول ۱۵ و متانول ۴۵ درصد حجمی (۳۹/۴۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به اتانول ۳۰ درصد حجمی و آب مقطر (۱۲/۴۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) بود. همچنین در شرایط تلفیقی آب مقطر (عدم اتانول) با افزایش غلظت متانول، کلروفیل کل افزایش یافت. در شرایط اتانول ۱۵ درصد حجمی نیز غلظت ۴۵ درصد متانول اثر تحریک‌کنندگی بر این صفت داشت (شکل ۴).

گزارش شده است که تیمارهای متانول باعث افزایش مقدار کلروفیل a و فعالیت مرکز واکنش (RC) فتوسیستم II در برگ می‌شود (Theodoridou et al., 2002). گزارش‌ها حاکی از آن است که از دلایل افزایش مقدار کلروفیل در اثر محلولپاشی متانول، وجود متابولیسم تک‌کربنه در گیاهان است. ساخت کلروفیل در برگ گیاه به وجود اسیدآمین S-آدنوزیل متیونین وابسته است. این اسیدآمین به کمک آنزیم آدومتیونین سنتتاز

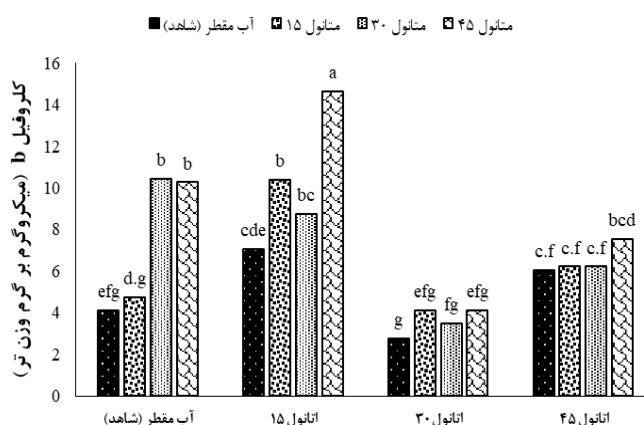
متانول در داخل اندام فتوسنتزکننده و به دنبال آن افزایش بیوماس، رشد و توسعه گیاه در برخی گیاهان سه کربنه همچون گوجه فرنگی، بادمجان، کتان، کلم و گندم گزارش شده است (Yavarpanah et al., 2015). خسروی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که محلول‌پاشی الکل‌هایی نظیر متانول به عنوان یک منبع کربنی و محرک زیستی می‌تواند باعث افزایش بیوماس و عملکرد گیاه دارویی سرخارگل شود. استفاده از متانول در گیاهانی نظیر گوجه‌فرنگی، چغندرقتد و کلزا، عملکرد را افزایش داد (Zbiec et al., 2003).

کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل: نتایج حاصل از

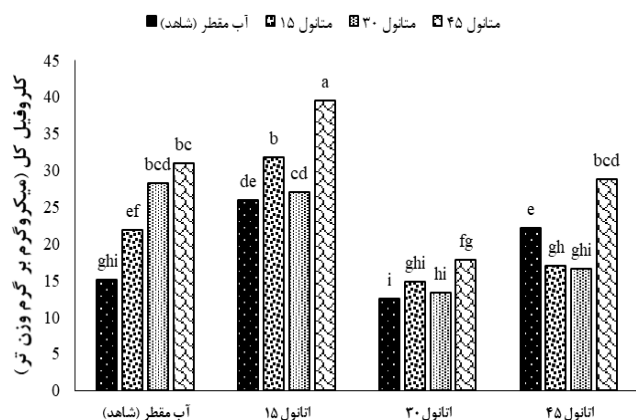
جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده و متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل a، بیشترین کلروفیل a مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۱۵ و ۴۵ درصد حجمی متانول (۲۴/۸۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۳۰ و آب مقطر (۹/۶۸ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) بود. در شرایط بدون اتانول (آب مقطر)، هرچه قدر میزان متانول افزایش یافت، کلروفیل a هم افزایش یافت. نتایج نشان داد که در شرایط اتانول ۳۰ درصد، افزودن غلظت ۱۵ و ۳۰ درصد متانول اثر افزایش‌دهنده‌ای بر کلروفیل a نداشت اما غلظت ۴۵ درصد آن باعث



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل محلولپاشی اتانول و متانول بر میزان کلروفیل a در گیاه بادرنجبویه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل محلولپاشی اتانول و متانول بر میزان کلروفیل b در گیاه بادرنجبویه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل محلولپاشی اتانول و متانول بر میزان کلروفیل کل در گیاه بادرنجبویه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

تبدیل به اسیدفورمیک با تتراهیدروفولیت ترکیب شده و طی فرآیندی زمینه ساخت متیونین را فراهم می‌کند (Van Iersel et

در چرخه متابولیسم تک‌کربنه ساخته می‌شود و اسیدآمینو متیونین پیش‌ماده ساخت آن است. در این چرخه متانول با

در گیاه بادام زمینی و اندازه‌گیری مقدار شاخص سبزینگی برگ با دستگاه کلروفیل متر SPAD مشاهده کردند که بیشترین مقدار محتوای کلروفیل برگ در دو سال زراعی در تیمار ۲۰ درصد حجمی متانول مشاهده شد که از لحاظ آماری با شاهد و نیز غلظت‌های بالاتر متانول تفاوت معنی‌داری داشت. بررسی اثر محلول‌پاشی ترکیبات کربنی متانولی در چهار غلظت صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی اعم از کلروفیل a، کلروفیل b، و کلروفیل کل در گیاهانی مانند گندم، یولاف، گوجه فرنگی، فلفل و انگور نشان داد که بالاترین میانگین این صفات در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد مشاهده شد (باقری و همکاران، ۱۳۷۶).

فلاونوئید: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده اتانول و متانول بر میزان فلاونوئید کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین اثر اتانول بر فلاونوئید نشان داد که بیشترین فلاونوئید مربوط به اتانول با غلظت ۱۵ درصد حجمی (۱۲/۴۷ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به اتانول با غلظت ۳۰ درصد حجمی (۸/۴۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) بود (جدول ۲). نتایج این پژوهش نشان داد که هر چه غلظت اتانول از ۱۵ درصد حجمی افزایش یافت از میزان فلاونوئید کاسته شد به طوری که درصد فلاونوئید در غلظت ۳۰ درصد حجمی اتانول به کمترین مقدار خود رسید و در غلظت ۴۵ درصد نیز با تیمار آب مقطر در یک سطح آماری قرار گرفت. جدول مقایسه میانگین اثر متانول بر فلاونوئید نشان داد که بیشترین فلاونوئید مربوط به غلظت ۴۵ درصد حجمی (۱۱/۹۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) که از لحاظ آماری با تیمار غلظت ۳۰ درصد حجمی متانول اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۸/۹۷ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) بود (جدول ۲). نتایج این پژوهش نشان داد که هر چه غلظت متانول از ۴۵ درصد حجمی کاسته شد، مقدار فلاونوئید به تدریج کاهش یافت به طوری که درصد فلاونوئید در غلظت ۱۵ درصد متانول با تیمار آب مقطر اختلاف معنی‌داری نداشت. Yazdifar و

Rajala *et al.*, 1995; Hanson and Roje, 2001) و همکاران (۱۹۹۸) با بررسی اثر متانول بر غلات بهاره، نخود و کلزای علوفه‌ای تابستانه مشاهده کردند که محتوای کلروفیل برگ و فلورسنس کلروفیل تغییری نکرد. این پژوهشگران همچنین با محلول‌پاشی متانول روی برخی گیاهان هیچ تغییری در عدد کلروفیل متر (عدد SPAD) مشاهده نکردند. آنها دلیل این مشاهده را محلول‌پاشی متانول در شب بیان کردند زیرا در این هنگام به دلیل عدم وجود نور، ساخت کلروفیل کاهش می‌یابد. ولی در برخی دیگر از پژوهش‌ها که محلول‌پاشی متانول در هنگام عصر صورت پذیرفت، افزایش کلروفیل در برگ مشاهده شد. در این زمان متابولیسم متانول با شدت بیشتری انجام شده که با تأثیر بر مقدار کلروفیل برگ باعث افزایش سبزینگی گیاه شده است. باقری و همکاران (۱۳۷۶) گزارش کردند که محلول‌پاشی ترکیبات کربنی متانولی در چهار غلظت صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد در پنج نوبت بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی اعم از کلروفیل a، کلروفیل b، و کلروفیل کل اثر معنی‌داری داشت که بالاترین میانگین این صفات در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد مشاهده شد. همچنین در برگ گندم، یولاف، گوجه فرنگی، فلفل و انگور نیز مقدار کلروفیل پس از محلول‌پاشی با متانول افزایش معنی‌داری را نشان داد (Rajala *et al.*, 1998).

محققان گزارش کردند که تیمار برگ گیاه توتون با متانول سبب افزایش محتوای کلروفیل برگ شد (Ramirez *et al.*, 2006). Mirakhori و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که مقادیر بالای مصرف متانول باعث تخریب کلروفیل می‌شود اما در سطوح پایین‌تر باعث افزایش کلروفیل و افزایش ماده خشک می‌گردد. گزارش‌ها حاکی از آن است که مقدار بیوستز کلروفیل در گیاه بادرنجبویه با افزایش غلظت تیمار متانول ۵۰ درصد روند افزایشی داشته است ولی در گیاه سرخارگل بیشترین میزان بیوستز کلروفیل تحت اعمال تیمار متانول ۳۰ درصد بوده و غلظت‌های بالای الکل باعث کاهش در بیوستز کلروفیل شده است (خسروی و همکاران، ۱۳۹۰). Safarzade و همکاران (۲۰۰۵) با محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول

اتانول با غلظت ۱۵ درصد حجمی (۶۲/۲۰ گرم در بوته) بود که از لحاظ آماری با تیمار ۳۰ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۲۶/۲۹ گرم در بوته) بود (جدول ۲). با توجه به این نتایج می‌توان اینگونه استنباط کرد که اعمال اتانول اثر تحریک‌کنندگی بر عملکرد اسانس داشت اما با افزایش غلظت آن (۴۵ درصد حجمی) از اثرات تحریک‌کنندگی آن کاسته شد. از آن جایی که افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی ارتباط مستقیم با میزان تولید ماده خشک گیاه دارد، بنابراین با توجه به اثرات افزایشی محلول‌پاشی با الکل‌ها روی میزان ماده خشک گیاه بادرشبو، می‌توان اینگونه بیان کرد که محلول‌پاشی گیاه بادرشبو به واسطه استفاده از تیمارهای هیدروالکلی اتانول و متانول اثری توجیه‌پذیر در استفاده از این تیمارها در افزایش عملکرد اسانس این گیاه داشته است (Nonomura and Benson, 1992) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

درصد پروتئین: جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر اتانول و متانول بر درصد پروتئین گیاه بادرشبو در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر درصد پروتئین نشان داد که بیشترین درصد پروتئین مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۴۵ و آب مقطر (۷/۸۱ درصد) و کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (عدم تیمار الکلی) (۱/۶۳ درصد) بود (شکل ۵). در شرایط تلفیقی بدون اتانول (آب مقطر) هرچه غلظت متانول افزایش یافت، بر درصد پروتئین نیز افزوده شد. در تیمارهای تلفیقی اتانول ۱۵ درصد حجمی، متانول با غلظت ۱۵ درصد حجمی اثر تحریک‌کننده بر این صفت داشت اما با افزایش غلظت متانول (۳۰ و ۴۵ درصد حجمی) از درصد پروتئین کاسته شد به طوری که از نظر درصد پروتئین بین این دو غلظت و تیمار آب مقطر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما در شرایط تلفیقی اتانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی، اعمال متانول اثر کاهنده بر درصد پروتئین داشت.

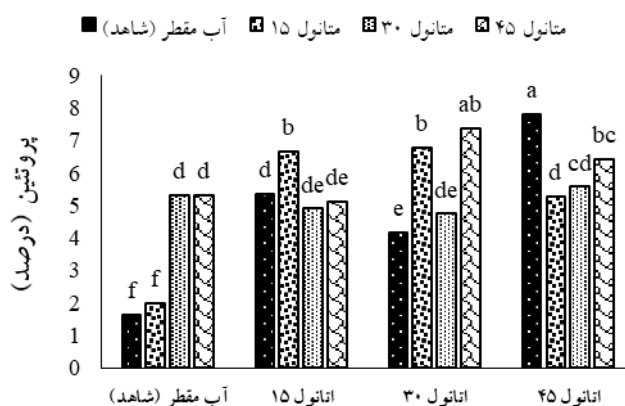
گزارش‌ها حاکی از آن است که متانول به صورت

همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد) منجر افزایش میزان فلاونوئید در گیاه همیشه بهار گردید که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت.

درصد اسانس: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده اتانول و متانول بر درصد اسانس به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین اثر اتانول بر درصد اسانس نشان داد که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار اتانول با غلظت ۱۵ درصد حجمی (۰/۴۲ درصد) بود که از لحاظ آماری با تیمار ۳۰ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۰/۳۲ درصد) بود که از لحاظ آماری با تیمار ۴۵ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). با توجه به این نتایج می‌توان استنباط کرد که اعمال اتانول در غلظت پایین (تا ۳۰ درصد حجمی) اثر مثبت بر این صفت داشته اما با افزایش غلظت اتانول، این اثر کاهش خواهد یافت بنابراین اعمال غلظت بالای اتانول می‌تواند غیرمفید و هزینه‌بر باشد. نتایج مقایسه میانگین اثر متانول بر درصد اسانس نشان داد که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار متانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی (۰/۴۶ درصد) بود که از لحاظ آماری با تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول در یک سطح قرار داشت (جدول ۲).

در آزمایشی که به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی چهار غلظت متانول بر کیفیت و عملکرد گیاه ترخون انجام گرفت، گزارش شد که محلول‌پاشی این ترکیب بر مقدار اسانس اثر معنی‌داری داشت و بیشترین میانگین این صفات در کاربرد متانول ۴۰ درصد مشاهده شد (Moradi and Ebadati, 2016). (Esfahani, 2016). همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد) منجر افزایش میزان اسانس در گیاه همیشه بهار گردید.

عملکرد اسانس: جدول مقایسه میانگین اثر اتانول بر عملکرد اسانس نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس مربوط به



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل محلولپاشی اتانول و متانول بر درصد پروتئین در گیاه بادرنجبویه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

محلول‌پاشی برگ‌گی یکی از روش‌های تغذیه و تأمین عناصر غذایی در گیاهان است که به دلیل بالا بودن سرعت جذب می‌توان عناصر غذایی را در کوتاه‌ترین زمان در دسترس گیاهان قرار داد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تمامی صفات مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر یک یا چند مورد از تیمارهای اعمال شده قرار گرفتند، که این تأثیر در هر کدام از تیمارها بر روی صفات مختلف متفاوت بود. اتانول ۱۵ درصد بیش‌ترین تأثیر را بر تعداد برگ در بوته، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و فلاونوئید کل در گیاه بادرنجبویه داشت. نتایج در مورد فلاونوئید نشان داد که هر چه غلظت اتانول از ۱۵ درصد حجمی افزایش یافت از میزان فلاونوئید کاسته شد به‌طوری‌که در غلظت ۴۵ درصد اتانول اثرات بازدارنده آن ظاهر شد. متانول ۱۵ درصد حجمی بیش‌ترین تأثیر را بر ارتفاع گیاه نشان داد. همچنین بالاترین میزان درصد و عملکرد اسانس نیز از تیمار متانول ۴۵ درصد به‌دست آمد. کاربرد اتانول ۴۵ درصد نیز سبب تولید بالاترین درصد پروتئین در گیاه بادرنجبویه شد. بنابراین استفاده از تیمارهای الکلی از قبیل اتانول و متانول با افزایش تثبیت دی‌اکسید کربن می‌تواند اثرات مثبتی بر عملکرد و ویژگی‌های دارویی گیاه بادرنجبویه داشته باشد.

فرمالدهید و دی‌اکسیدکربن در گیاه اکسید شده و به صورت اسیدهای آمینه سرین و متیونین و کربوهیدرات‌ها در بافت‌های مختلف گیاهان سه کربنه سنتز می‌شود (Nonomura and Benson, 1992). افزایش سرعت رشد و ارتفاع محصول پس از محلول‌پاشی متانول به علت افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در برگ‌ها و استفاده از متانول به عنوان یک منبع مستقیم در سنتز اسیدآمینه سرین و کاهش هدررفت کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد (نادعلی و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین پیله‌وری خمایی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که عملکرد غلاف، دانه و مقدار پروتئین دانه‌های بادام زمینی با محلول‌پاشی متانول ۲۰ درصد افزایش یافت که با مصرف بیشتر متانول، سرعت رشد گیاه نیز در اثر افزایش بازده فتوسنتزی زیاد شده و تخصیص مواد پرورده به غلاف‌های در حال رشد افزایش یافت. بر اساس برخی پژوهش‌ها، استفاده از متانول از غلظت ۱۰ تا ۳۰ درصد حجمی سبب افزایش فعالیت آنزیم پروتئیناز خواهد شد و از ۳۰ تا ۷۰ درصد، فعالیت این آنزیم به تدریج کاهش خواهد یافت. ممکن است یکی از دلایل کاهش میزان پروتئین در تیمار تلفیقی اتانول ۴۵ درصد با متانول در غلظت‌های پایین‌تر نیز افزایش فعالیت آنزیم پروتئیناز باشد (شارقی و همکاران، ۱۳۹۶).

منابع

- باقری، ع.، نظامی، ع.، گنجعلی، ع. و پارسا، م. (۱۳۷۶) زراعت و پرورش نخود. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- پيله‌وری خممامی، ر.، صفرزاده ویشکایی، م.ن.، ساجدی، ن.ع.، رسولی، م. و مرادی، م. (۱۳۸۷) اثر مصرف مقادیر متانول و روی بر خصوصیات کمی و کیفی بادام زمینی در گیلان. مجله یافته‌های نوین کشاورزی ۲: ۳۳۹-۳۵۱.
- جعفری مرندی س. و مجد ا. (۱۳۸۷) اثر تیمارهای الکلی (اتانول- متانول) بر تکوین مریستم رویشی، تشکیل اجزا گل، تغییر در تعداد شاخه های گل زا، تکوین رویان ها و امکان به تاخیر انداختن پیری در گل های میخک *Dianthus caryophyllus* لزبست‌شناسی تکوینی ۱: ۹-۱۴.
- خسروی، م. (۱۳۹۰) تأثیر محلول‌پاشی متانول و اتانول بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، ایران.
- رمرودی، م.، چزکی، م. و گلوی، م. (۱۳۹۶) تأثیر محلول‌پاشی متانول بر ویژگی‌های کمی و تنظیم کننده‌های اسمزی بادرشبو در شرایط کم‌آبایی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۴۸: ۱۴۹-۱۵۸.
- شارقی، ب.، یداللهی، ا. و ربیعی، ع. (۱۳۹۶) اثر اوره، گوانیدین هیدروکلراید و حلال‌های آلی بر فعالیت سیستئینی آنزیم پروتئیناز-K. مجله زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ۱۹: ۱۲۹-۱۲۳.
- عباس زاده بهلول، شریفی عاشور آبادی، ا. و اردکانی، م. (۱۳۸۵) بررسی تاثیر روش مصرف کود نیتروژن بر بازده و درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه *Melissa officinalis* L. تحت شرایط مزرعه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳: ۲۲۳-۲۲۳۰.
- عمارلو، ا. (۱۳۹۲) بررسی اثر اسید سیتریک، اتانول و متانول بر روی برخی از صفات گیاه گوجه فرنگی رقم سوپرا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران.
- نادعلی، ا.، پاک‌نژاد، ف.، مرادی، ف. و وزان، س. (۱۳۸۹) اثر متانول بر عملکرد و برخی خصوصیات کیفی چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) رقم رسول در شرایط تنش و بدون تنش خشکی. مجله به‌زراعی نهال و بذر (نهال و بذر): ۲۶: ۹۵-۱۰۸.
- نورافکن، ح. و پویانفر، م. (۱۳۹۶) خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی مرزه تحت تأثیر محلول‌پاشی متانول و اتانول. فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی ۱۳: ۹-۱۷.
- نورافکن، ح. و کلانتری، ز. (۱۳۹۵) اثر محلول‌پاشی با متانول و اتانول بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی نعنای فلفلی. فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی ۱۲: ۱-۹.
- Abanda, D., Musch, M., Tschiersch, J., Boettne M. and Schawb, W. (2006) Molecular interaction between methylobacterium extorquens and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. *Journal of Experimental Botany* 57: 4025-32.
- Abbasian, A., Mirshekari, B., Safarzade Vishekai, M.N., Rashidi, V. and Aminpanah, H. (2016) Effects of the foliar application of methanol on the yield and growth of rice (*Oryza sativa* cv. Shiroudi). *Ciencia e investigacion agrarian* 43: 17-24.
- Blumenthal, M., Goldberg, A. and Brinckmann, J. (2000) *Herbal Medicine-Expanded Commission E Monographs*. Newton, MA: Integrative Medicine Communications 123: 230-232.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-54.
- Downie, A. L., Miyazaki, S., Bohnert, H. J., John, P., Coleman, J. O. D., Parry, M. A. J. and Haslam, R. P. (2004) Expression profiling of the response *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Phytochemistry* 65: 2305-2316.
- Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr, S. J., Hamidinia, A., and Jafari, M. (2010) Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacology online* 1: 7-14.
- Fall, R. and A. A. Benson. (1996) Leaf methanol—the simplest natural product from plants. *Trends in Plant Sciences* 1: 296-301.

- Hansen, L. D., M. S. Hopkin, D. R. Rank, T. S. Anekonda, R. W. Breidenbach and Criddle, R. S. (1994) The relation between plant growth and respiration: A thermodynamic model. *Planta* 194: 77-85.
- Hanson, A. D. and Roje, S. (2001) One carbon metabolism in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52: 119-138.
- Joshi, K., Chavan, P., Dnyaneshwar, W. and Bhushan, P. (2004) Molecular markers in herbal drugs technology. *Current Science* 87: 816-165.
- Lichtenthaler, H. K. (1992) The Kaustky effect: 60years of chlorophyll fluorescence induction kinetics. Food crops to temperature and water stress, AVRDC, Shanhua, Taiwan, pp: 389-398.
- Makhdum, I. M., Nawaz, A. Shabab, M., Ahmad, F. and Illahi, F. (2002) Physiological response of cotton to methanol foliar application. *Journal of Research (Science)* 13: 37-43.
- Mauney, J. R. and Gerik, T. J. (1994) Evaluating methanol usage in Cotton. Proc. Beltwide Cotton Conf., National Cotton Council of America Memphis, TN, USA. p: 39-40.
- Mirakhori M, F. Paknejad, F. Moradi, M. Ardakani, H. Zahedi and Nazeri, P. (2009) Effect of Drought Stress and Methanol on Yield and Yield Components of Soybean Max (L 17), *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 5: 162-169.
- Moradi, P. and Ebadati Esfahani, R. (2016) Effect of foliar application methanol on the quality and quantity of *Artemisia dracunculus* L. *Electronic Journal of Biology* 1: 24-29.
- Nonomura, A. M., Benson, A. A. (1992) The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yield with methanol. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89: 9794-9798.
- Rajala, A., Karkkainen, J., Peltonen, J. and Peltonen-Sainio, P. (1998) Folia applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C3 crops. *Industrial Crops and Products* 7: 129-137.
- Ramirez, I., Dorta, F., Espinoza, V., Jimenez, E., Mercado, A. and Pen, H. (2006) Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of Arabidopsis, Tobacco, and Tomato plants. *Plant and Soil* 289: 30-44.
- Safarzade M. N., Normohamadi, G. H., Majidi Haravan, E. and Rabiei, B. (2005) Effect of methanol on peanut Growth and yield (*Arachis hypogaea* L.). *The Journal of Agricultural Science* 2005: 103-188.
- Theodoridou, A., Dornemann, D. and Kotzabasis, K. (2002) Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. *Biochimica et Biophysica Acta* 1573: 189-198.
- Van Iersel, M. W., Heitholt, J. J., Wells, R. and Oosterhuis, D. M. (1995) Foliar methanol applications to cotton in the Southeastern United States: leaf physiology, growth and yield components. *Agronomy journal* 87: 1157-1160.
- Yavarpanah, Z., Alizadeh, M. and Seifi, S. (2015) Effects of foliar and root applications of hydro-alcoholic solutions on physiological and biochemical attributes and fruit yield and weight of strawberry. *Journal of Plant Physiology and Breeding* 5(1): 47-54.
- Yazdifar, S. H., Moradi, P. and Yousefi Rad, M. (2015) Effect of foliar application of methanol and chelated zinc on the quantities and qualities yield of marigold (*Calendula officinalis* L). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 4: 170-176.
- Zbiec, I., Karczmarczyk, S. and Podsiadlo, C. (2003) Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities (EJPAU)* 6: 1-7.

Effect of carbon sources of ethanol and methanol on morpho-physiological parameters of *Melissa officianlis* L.

Vahid Akbarpour^{1*}, Javad Taheri Moghadas², Mohammad Ali Bahmanyar³

¹ Horticultural Sciences and Engineering Department, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari

² Graduated M.Sc. of Medicinal Plants, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

³ Department of Soil Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: 01/09/2020, Accepted: 06/04/2021)

Abstract

In order to investigate the effect of different carbon sources (ethanol and methanol) on some morphological and physiological characteristics of *Melissa officianlis* L., a pot experiment was conducted in factorial based on completely randomized design with three replications in the research greenhouse of Shahed University in 2018. Foliar treatments included different concentrations of 0, 15, 30 and 45% ethanol and methanol. The results showed that ethanol 15% had the most effect on leaf number per plant and total flavonoid. As ethanol concentration increased by 15%, the flavonoid content decreased, so that at 45% ethanol concentration, its inhibitory effects appeared. The highest plant height and protein percentage were obtained in 15% methanol and 45% ethanol treatments, respectively. The highest percentage and yield of essential oil were obtained from methanol treatment with 45%. Also, the combined application of 15% ethanol and 45% methanol, produced the highest biological yield, chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll. Therefore, the use of alcoholic compounds such as methanol and ethanol is one of the appropriate strategies to improve the yield and quality of *Melissa officianlis* L.

Keywords: Essential oil, Hydroalcohols, *Melissa officianlis*, Protein, Spray

Corresponding author, Email: v_akbarpour60@yahoo.com