

## Morphophysiological response of basil under carbon dioxide and ethanol nutrition

Ezzat Darabi Hoseinabad Ghaeni<sup>1</sup>, Mohammad Moghaddam<sup>2\*</sup>, Mahmoud Shoor<sup>3</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

ezdaraby@gmail.com

2- Corresponding Author and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

m.moghadam@um.ac.ir

3- Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

shoor@um.ac.ir

Received Date: 2021/01/27

Accepted Date: 2021/06/27

### Abstract

**Introduction:** The side effects of chemical drugs have resulted in more attention from humans to use medicinal plants and their extract ingredients to treat many diseases. Basil (*Ocimum basilicum*) is a medicinal plant from the Lamiaceae family that is used in the food and cosmetic industries. Due to the serious problems in the past decades resulting in the excessive application of chemical inputs and plant growth regulators to enhance agricultural production, nowadays, the need for new technologies to produce safe food and protect the environment has been of great interest to the international community. In this regard, the application of alcohols, especially ethanol and methanol solutions, to improve the performance of plants in the agricultural systems is important. The use of foliar application of methanol and ethanol on the aerial parts of different plants propound as one of the newest strategies to increase growth and their yield. Short-term exposure to elevated CO<sub>2</sub> for plants generally leads to an increase in the rates of leaf-level photosynthesis due to enhance the activity of ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco). The response to elevated CO<sub>2</sub> results in an increase in leaf area, biomass accumulation, or individual plant size.

**Material and methods:** To study the morphophysiological response of basil cv. keshkeni luvellou under CO<sub>2</sub> and ethanol nutrition, a pot experiment was conducted at the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad as factorial based on a completely randomized design with three levels of CO<sub>2</sub> (380, 700, and 1050 mg/L) and four levels of ethanol foliar application (0, 10, 20 and 30 %v/v) in three replications in 2019. The studied traits were included growth characteristics (plant height, number of branches, stem diameter, internode distance, and fresh and dry weight of the aerial part) and photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, and total chlorophyll), antioxidant activity, total phenol, and essential oil content. Statistical analysis was performed using Minitab 17 software. The mean comparison was done by the Bonferroni test at the 5% probability level. The figures drew by Microsoft excel software.

**Results and discussion:** The results of the mean comparisons showed that, with increasing ethanol concentration, the growth characteristics of the plant increased, and also the application of 700 mg/L carbon dioxide was able to increase the growth characteristics of the plant. Application of 700 mg/L CO<sub>2</sub> and foliar application of ethanol (20%v/v) increased chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll by 72.18, 74.01, and 71.33%, respectively compared to 380 mg/L CO<sub>2</sub> and no ethanol application. The results also showed that the highest antioxidant activity (87.38%) and total phenol (264 mg g fresh leaf weight) higher than control at 700 mg/L CO<sub>2</sub> and 20 %v/v ethanol foliar application. The highest essential oil content was observed at 1050 mg/L CO<sub>2</sub> and 30%v/v ethanol. The results of this experiment showed that the use of CO<sub>2</sub> and ethanol by affecting plant metabolites and improving photosynthesis can affect the morphophysiological characteristics of the basil.

**Conclusions:** Based on the results of this experiment, the growth characteristics, photosynthetic pigments, antioxidant activity, total phenol, and essential oil content of *O. basilicum* cv. Keshkeni luvellou was influenced by CO<sub>2</sub> and ethanol. At 700 mg/L CO<sub>2</sub> and 20%v/v ethanol application due to the effect on these compounds in improving photosynthesis, the highest growth characteristics were observed. While the highest essential oil content was observed in the highest levels of carbon dioxide and ethanol foliar application. Therefore, according to the results of this study to achieve the highest yield of basil, 700 mg/L CO<sub>2</sub> and 20%v/v ethanol application is recommended.

**Keywords:** Plant height, Antioxidant activity, Essential oil content, Photosynthesis pigments, Total phenol.

## پاسخ مورفوفیزیولوژیکی ریحان به تغذیه با دی اکسید کربن و اتانول

عزت دارابی حسین آباد قاینی<sup>۱</sup>، محمد مقدم<sup>۲\*</sup>، محمود شور<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.  
ezdaraby@gmail.com

۲- نویسنده مسئول و دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.  
m.moghadam@um.ac.ir

۳- دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.  
shoor@um.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۰۸

### چکیده

به منظور تولید پایدار محصولات کشاورزی نیازمند استفاده از نهاده‌هایی هستیم که بیشترین راندمان و در عین حال کمترین ضرر را برای سلامتی انسان و محیط زیست داشته باشند. باهدف بررسی اثر سطوح مختلف دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی ریحان رقم کشکنی لولو در سال ۱۳۹۸ آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح دی اکسید کربن (۳۸۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی گرم در لیتر) و چهار سطح محلول پاشی اتانول (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) در سه تکرار انجام شد. صفات مورد مطالعه شامل ویژگی‌های رشدی (ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، طول میانگره، قطر ساقه و وزن تر و خشک اندام هوایی)، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل)، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل و میزان اسانس بودند. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت اتانول اکثر ویژگی‌های رشدی گیاه افزایش یافت همچنین کاربرد دی اکسید کربن در سطح ۷۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در افزایش ویژگی‌های رشدی ریحان برجای گذاشت. کاربرد ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و محلول پاشی ۲۰ درصد حجمی اتانول به ترتیب موجب افزایش ۷۲/۱۸، ۷۴/۰۱ و ۷۱/۳۳ درصدی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به سطح ۳۸۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و عدم محلول پاشی اتانول شد. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۸۷/۳۸ درصد) و فنل کل (۲۶۴ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) در سطح ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و محلول پاشی ۲۰ درصد اتانول مشاهده شد. بیشترین میزان اسانس نیز در سطح ۱۰۵۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول حاصل شد. نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد دی اکسید کربن و اتانول با تاثیر بر متابولیت گیاهی و بهبود رنگیزه‌های فتوسنتز می‌تواند بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه ریحان تاثیرگذار باشد؛ بطوری که برای رسیدن به بیشترین عملکرد کاربرد ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و ۲۰ درصد حجمی اتانول پیشنهاد می‌شود.

**کلمات کلیدی:** ارتفاع گیاه، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل، رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان اسانس.

## مقدمه

به دلیل مشکلات جدی که استفاده بیش از حد مواد شیمیایی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به‌منظور افزایش عملکرد محصولات به‌وجود آورده‌اند؛ امروزه محققین به‌دنبال راهکارهای جدید برای تولید غذای بیشتر هستند که خطری برای محیط زیست نداشته باشد. استفاده از الکلها به‌ویژه اتانول و متانول یکی از این راهکارها بوده که در جهت افزایش عملکرد گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Haakana et al., 2001). ترکیبات الکلی پس از محلول‌پاشی و نفوذ به بافت‌ها تبدیل به فرمالدئید شده و در نهایت این ترکیب نیز به دی‌اکسیدکربن تبدیل می‌شود و در نتیجه آن سطح دی‌اکسیدکربن داخلی برگ افزایش یافته و افزایش در میزان فتوسنتز برگ را باعث می‌شود (Khosravi, 2011). علاوه‌براین کاربرد ترکیبات الکلی به‌عنوان یک محرک زیستی عمل کرده و موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (Sajedi Moghadam et al., 2012). تحقیقات پیشین نشان داده است که محلول‌پاشی با اتانول به‌ویژه در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد موجب افزایش ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی نعناع‌فلغلی شد (Nourafcan et al., 2018). همچنین کاربرد اتانول ویژگی‌های رشدی و عملکرد گیاه دارویی سرخارگل را افزایش داده (Khosravi, 2011) و در گیاه دارویی اسفرزه افزایش در شاخص کلروفیل را در پی داشت (Larzqadiri et al., 2013). محلول‌پاشی با اتانول همچنین موجب افزایش عملکرد ماده خشک و میزان اسانس در ریحان گردید (Moghaddam et al., 2018). محلول‌پاشی متانول و اتانول فعالیت آنزیم<sup>۱</sup>FBPase را که یک آنزیم مهم در کنترل فتوسنتز است افزایش می‌دهد (Khosravi, 2011). متابولیسم متانول، اتانول و تبدیل آن به قندها در برگ‌های گیاهان تیمار شده با آنها می‌تواند پتانسیل اسمزی برگ‌ها را تغییر داده و باعث افزایش فشار تورگر و افزایش هدایت روزنه‌ای شود که این امر باعث سرعت بخشیدن به

آسیمیلایسیون و همچنین افزایش رشد گیاه می‌شود (Moghaddam, Nourafcan et al., 2018). همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که تشکیل کلروفیل در حضور نور نیاز به هورمون سیتوکنین دارد و از آنجایی که محلول‌پاشی الکل‌ها باعث افزایش محتوای سیتوکنین گیاه می‌شود می‌تواند افزایش کلروفیل را در گیاه باعث شود (Moghaddam et al., 2018).

دی‌اکسیدکربن<sup>۲</sup> ترکیبی گازی می‌باشد که ۰/۰۳۸ درصد از اتمسفر را به‌خود اختصاص می‌دهد و با اینکه بخش کمی از اتمسفر را شامل می‌شود؛ جزو اصلی اتمسفر برای فتوسنتز به‌شمار می‌رود و بدون وجود آن گیاهان و جانوران قادر به ادامه زندگی خود نیستند (Keeling and Whorf, 2005). از ابتدای انقلاب صنعتی تاکنون بر غلظت دی‌اکسیدکربن افزوده شده است به‌نحوی که غلظت آن از ۲۸۰ به ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافته است که بر فیزیولوژی گیاه، مورفولوژی و فتوسنتز آن تاثیر می‌گذارد (Urbonavičiūtė et al., 2006). در واقع دی‌اکسیدکربن نه تنها یک گاز گلخانه‌ای می‌باشد بلکه برای رشد گیاه نیز ضروری بوده و منبع اصلی کربن برای گیاه به‌شمار می‌رود و در سنتز متابولیت‌های اولیه در طی فرآیند فتوسنتز مصرف می‌شود (Mishra and Verma, 2013). کمبود دی‌اکسیدکربن موجب اختلال در فتوسنتز شده چرا که فعالیت آنزیم رایبیسکو که آنزیم اصلی در مسیر فتوسنتز است به غلظت این گاز بستگی دارد و موجب می‌شود تا تنفس نوری کاهش یابد (Zheng et al., 2019). بنابراین از اثرات اصلی گاز دی‌اکسیدکربن بر گیاهان می‌توان به کاهش هدایت روزنه‌ای و تعرق و بهبود راندمان مصرف آب و نور اشاره کرد (Li et al., 2017). در تحقیقات پیشین نشان داده شده است که دو برابر شدن غلظت دی-اکسیدکربن می‌تواند به‌طور متوسط رشد و بازدهی گیاهان مختلف را بیش از ۳۰٪ افزایش دهد (Morison and Lawlor, 1999). همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف

1 . Fructose 1,6 bisphosphatase

2 . Carbon dioxide

۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان فاکتور دوم و در سه تکرار بودند. محلول‌پاشی اتانول با استفاده از اسپری‌کننده دستی به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان صورت گرفت، بطوری‌که قطرات محلول از نوک برگها می‌چکد. محلول‌پاشی به مدت یک ماه و به فاصله هفته‌ای یک‌بار و در جمع ۴ بار انجام شد. صفات مورد مطالعه در این تحقیق شامل ویژگی‌های رشدی (ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، فاصله میانگره، قطر ساقه و وزن تر و خشک اندام هوایی)، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل)، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، فنل کل و میزان اسانس بودند. بذور ریحان در سینی کشت محتوی کوکوپیت و پرلیت با نسبت مساوی (۱:۱) کشت شدند و سپس در مرحله چهار برگی چهار بوته به گلدانی‌هایی با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر که حاوی خاکی با ترکیب خاک باغچه، خاک برگ و ماسه به نسبت ۱:۱:۱ بودند؛ انتقال یافتند (آنالیز خاک در جدول ۱ آورده شده است). برای اعمال تیمار دی‌اکسیدکربن از محفظه‌هایی به طول ۲ متر، عرض ۱/۵ متر و ارتفاع دو متر که با پلاستیک کاملاً شفاف پوشانده شده و دارای سیستمی کاملاً خودکار جهت تنظیم غلظت گاز بودند؛ استفاده شد. بدین صورت که یک فتوسل دستور روشن و خاموش شدن دستگاه را به ترتیب در روز و شب انجام می‌داد. تزریق گاز دی‌اکسیدکربن با استفاده از کیپسول‌های ۵۰ کیلوگرمی و شیرهای برقی و تایمرهایی که در مسیر قرار داده شده بودند، صورت گرفت. با استفاده از یک حسگر دی‌اکسیدکربن قابل حمل، میزان غلظت‌های دی‌اکسیدکربن در طول روز اندازه‌گیری شد. قبل از شروع کار، سیستم تزریق ابتدا تنظیم شد. بطوری‌که تزریق حدود ۱ ثانیه گاز دی‌اکسیدکربن و خاموشی ۱۰ دقیقه‌ای سیستم مقدار ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن در هوا را تولید نمود. همچنین حدود ۳ ثانیه تزریق گاز دی‌اکسیدکربن و خاموشی ۱۰ دقیقه‌ای سیستم مقدار ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن در هوا را تولید نمود. ضمناً در وسط روز ۱

دی‌اکسیدکربن بر عملکرد و فتوسنتز گندم (Broberg et al., 2019) و کاساوا (Cruz et al., 2016) اثر افزایشی داشت. در گیاه زینتی جعفری نیز بیشترین تاثیر دی‌اکسیدکربن، مربوط به غلظت ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر آن بود که موجب افزایش ۳ برابری در سطح برگ در این گیاه شد. همچنین افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن از طریق افزایش تقسیم سلول‌های اپیدرم، صفاتی نظیر ارتفاع ساقه، تعداد برگها و قطر ساقه را در این گیاه افزایش داد که حاکی از تاثیر غلظت بالای دی‌اکسیدکربن بر روند افزایش تولید روزنه‌ها در برگهای بالغ و تحریک تشکیل برگهای جدید می‌باشد (Shoor et al., 2012).

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است. با توجه به موارد فوق و اینکه یافتن راهکارهایی برای افزایش تولید محصولات باغبانی از اهمیت بالایی برخوردار است و به دلیل اینکه تاکنون تحقیقی مبنی بر بررسی اثر توأم محلول‌پاشی اتانول و کاربرد دی‌اکسیدکربن بر روی این گیاه انجام نشده است؛ هدف از این تحقیق بررسی پاسخ مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ریحان رقم کشکنی لولو به تغذیه با دی‌اکسیدکربن و اتانول می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف اتانول و غلظت‌های متفاوت دی‌اکسیدکربن بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان رقم کشکنی لولو در سال ۱۳۹۸ به صورت آزمایش فاکتوریل برپایه طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد با میانگین دمای ۲۲ تا ۲۸ درجه سلسیوس (به ترتیب برای شب و روز) و رطوبت ۷۵ درصد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل محلول‌پاشی اتانول در ۴ سطح (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) به‌عنوان فاکتور اول و دی‌اکسیدکربن در ۳ سطح (۳۸۰،

اولین محلول‌پاشی با اتانول در مرحله ۸ برگگی انجام شد و محلول‌پاشی‌های دیگر با فاصله یک هفته از هم و به مدت یک ماه و در کل چهار مرتبه محلول‌پاشی‌ها انجام شد. در مرحله تمام گل نمونه‌گیری از گیاهان انجام شد و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. لازم به ذکر است که این آزمایش در حدود ۵۰ روز به طول انجامید.

ساعت هوای زیر چادرها جهت هوادهی تخلیه می‌شد. با تایمر نصب شده روی سیستم، دستور کار تعیین غلظت دی‌اکسیدکربن به‌طور خودکار در طول روز انجام می‌شد و در شب هم این سیستم به‌صورت خودکار خاموش بود. گیاهان در مرحله ۶ برگگی به‌منظور اعمال سطوح مختلف دی‌اکسیدکربن به داخل چادرهای مختلف انتقال یافتند.

#### جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 2- Some chemical and physical characteristics of the soil

CEC (meq/100g soil)	pH	EC (ds/m)	Organic carbon (%)	Organic materials (%)	Sand	Silt	Clay
7.9	7.7	1.5	0.83	1.4	72.1	19.3	8.5

به‌منظور اندازه‌گیری صفات ذکر شده در زیر جدا شد (Mehdizadeh et al., 2021).

#### رنگیزه‌های فتوسنتزی

با قرار دادن عصاره متانولی تهیه شده در قسمت بالا به‌علت غلیظ بودن و عدم توانایی دستگاه اسپکتروفتومتر در خواندن غلظت رنگیزه‌ها در طول موج‌های ذکر شده، لذا رقیق کردن عصاره با نسبت ۱:۵ صورت گرفت. با قرائت در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر و قرار دادن اعداد بدست آمده از اسپکتروفتومتر در روابط زیر، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل) محاسبه گردید (Wellburn, 1994):

که در این روابط Chla: میزان کلروفیل a، Chlb: میزان کلروفیل b، Cx+c: کارتنوئیدها و Chlt: کلروفیل کل می‌باشند.

$$\text{Chla} = (15.65 \times A666) - (7.34 \times A653)$$

$$\text{Chlb} = (27.05 \times A653) - (11/21 \times A666)$$

$$\text{Cx+c} = (1000 \times A470 - 2.860 \times \text{Chla} - 129.2 \times \text{Chlb}) / 245$$

$$\text{Chlt} = \text{Chla} + \text{Chlb} + \text{Cx+c}$$

#### اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی

جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی گیاه از روش‌های مرسوم استفاده شد. بطوری‌که ارتفاع بوته و فاصله میانگره با خط‌کش اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری قطر ساقه با کولیس انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی از ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت درون آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از توزین و به‌عنوان وزن خشک گزارش شدند.

#### تهیه عصاره متانولی

۰/۵ گرم از نمونه تازه برگگی به‌همراه ۵ میلی‌لیتر متانول ۹۶ درصد درون هاون چینی ساییده و عصاره‌گیری انجام شد. سپس عصاره‌ها تهیه شده به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ انجام شدند. پس از سانتریفیوژ عصاره شفاف بدست آمده در قسمت فوقانی

## فعالیت آنتی‌اکسیدانی

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، چون رنگ عصاره‌ها تیره بود و در این طول موج دستگاه اسپکتروفتومتر نمی‌توانست طول موج را اندازه‌گیری کند، ابتدا ۱۰۰ ماکرولیتر عصاره متانولی تهیه شده، به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد. سپس به منظور غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد به هر نمونه ۴ میلی‌لیتر ماده DPPH (2,2- Diphenyl-1-Picril-

hydrazol) اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند و سپس جذب محلول‌های حاصل و همچنین جذب نمونه شاهد (کلیه مواد بدون نمونه گیاهی) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. درصد بازداری از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه شاهد و استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Babaei et al., 2021):

$$100 \times \left( \frac{\text{جذب نمونه شاهد}}{\text{جذب نمونه ارزیابی شده} - \text{نمونه شاهد}} \right) : \text{AA} \%$$

## فنل کل

میزان فنل کل با اضافه کردن معرف فولین سیکالتو به عصاره متانولی تهیه شده از نمونه برگ و قرار دادن نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از اسید گالیک جهت استاندارد استفاده شد و مقدار ترکیبات فنلی کل بر اساس معادل میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد (Babaei et al., 2021).

## میزان اسانس

استخراج اسانس در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشکده کشاورزی و به صورت تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد. بدین منظور میزان ۲۵ گرم از پیکرویشی خشک شده پس از آسیاب شدن مختصر در ۶۰۰ میلی‌لیتر آب در داخل دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت جوشانده شد. پس از این مدت، اسانس در محل جمع‌آوری اسانس که مدرج می‌باشد جمع گردید و حجم آن قرائت شد و میزان اسانس به صورت درصد حجمی-وزنی ثبت گردید.

## آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون Bonferroni در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

## نتایج و بحث

### ویژگی‌های رشدی

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول بر تمامی ویژگی‌های رشدی مورد مطالعه در این تحقیق به جز فاصله میانگره در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد؛ اما در مورد فاصله میانگره این معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد قابل مشاهده بود (جدول ۲).

نتایج این تحقیق نشان داد که کمترین ارتفاع بوته (۶۵/۶۰ سانتی‌متر)، تعداد شاخه‌فرعی (۹)، طول میانگره (۸/۲ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۳/۷۳ میلی‌متر)، وزن تر اندام هوایی (۲۸/۲۱ گرم در گیاه) و وزن خشک اندام هوایی (۵/۳ گرم در گیاه) در تیمار ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن و عدم محلول‌پاشی اتانول مشاهده شد (جدول ۳). تیمار ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی اتانول ۳۰ درصد موجب شد تا ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی به ترتیب ۳۰/۲۲، ۹۵/۷۱، ۱۷۶/۴۹ و ۷۵/۴۷ درصد نسبت به سطح ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن و عدم محلول‌پاشی اتانول افزایش یابند (جدول ۳). این در حالی بود که بیشترین تعداد شاخه‌فرعی (۱۸/۶) و فاصله میانگره (۱۱ سانتی‌متر) در تیمار ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر دی‌اکسیدکربن و اتانول بر خصوصیات مورفولوژیکی ریحان رقم کشکنی لولو  
**Table 3- Analysis of variance of the effect of carbon dioxide and ethanol on the morphological characteristics of basil Keshkeni Luveluo cultivar**

Source of Variance	df	Mean of Square					
		Plant height	Number of branches	Internode length	Stem diameter	Fresh weight of aerial part	Dry weight of aerial part
CO <sub>2</sub>	2	228.10**	102.47**	2.71*	15.04**	3236.05**	6.51**
Ethanol	3	63.01**	9.53**	3.83**	2.66**	297.95**	10.90**
CO <sub>2</sub> × Ethanol	6	62.38**	6.47**	2.07*	0.71**	154.54**	3.98**
Error	24	6.50	1.33	0.66	0.11	29.60	0.76

\*\*،\* به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد و ۵ درصد  
 \*and\*\* Significant at 5% and 1% of probability levels respectively

متابولیت‌های اولیه در طی عمل فتوسنتز مصرف می‌شود و بنابراین افزایش میزان آن می‌تواند رشد گیاه را بهبود بخشد (Mirseyed Hosseini et al., 2018). یکی دیگر از علل احتمالی آن را می‌توان اینگونه بیان کرد که گیاهان با سطح مطلوب دی‌اکسیدکربن به‌علت راندمان بالاتر مصرف آب و نیتروژن کمتر تحت تنش‌های محیطی قرار گرفته و شرایط رشدی بهتری را خواهند داشت (Xu et al., 2015). افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن نیز موجب بهبود ویژگی‌های رشدی در شمعدانی عطری (Vojodi Mehrabani, 2019) شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. دی‌اکسیدکربن یکی از ارکان اصلی (آب، نور، عناصر غذایی و دی‌اکسیدکربن) برای رشد گیاه محسوب شده و کمبود آن موجب کاهش رشد گیاه می‌شود که به‌خوبی در نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیق Mirseyed Hosseini و همکاران (۲۰۱۸) بر روی گندم قابل مشاهده می‌باشد. همچنین می‌توان گفت در سطوح پایین دی‌اکسیدکربن در هنگام قرار داشتن گیاه در معرض نور موجب می‌شود تا پذیرنده‌های الکترونی در زنجیره انتقال الکترون در فتوسنتز کاهش یافته و به موجب آن رشد گیاه با کمبود مواجه خواهد شد (Durchan et al., 2001). به بیان دیگر می‌توان چنین گفت که در گیاهان سه کربنه از جمله گیاه مورد مطالعه در این تحقیق اصلی‌ترین عامل تجمع ماده خشک در گیاه براساس تناسب بین فتوسنتز، تنفس نوری و تنفس

و عدم محلول‌پاشی اتانول مشاهده شد (جدول ۳) که این مقادیر به ترتیب حاکی از افزایش ۱۰۶/۶ و ۳۴/۱۴ درصدی نسبت به کمترین میزان آن‌ها بود. دلیل تاثیر دی‌اکسیدکربن بر ویژگی‌های رشدی گیاه می‌تواند این امر باشد که کاربرد دی‌اکسیدکربن به توسعه و افزایش برگ‌ها کمک می‌کند که این امر در نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیق Shoor و همکاران (۲۰۱۲) بر روی گل جعفری قابل مشاهده بود. در واقع کاهش سطح دی‌اکسیدکربن یکی از اصلی‌ترین عوامل کاهش فتوسنتز در گیاه به‌شمار می‌رود که این کاهش در فتوسنتز کاهش در رشد را در پی خواهد داشت (Pospisilova et al., 2007) و این امر به‌خوبی در نتایج حاصل از این تحقیق قابل مشاهده است. Soltani و همکاران (۲۰۲۰) نیز با مطالعه بر روی گیاه ارکیده خربقی به نتایج مشابه دست یافتند. علاوه‌براین مشابه نتایج حاصل از این تحقیق Li و همکاران (۲۰۲۰) در تحقیق خود بر روی گیاه خیار نشان دادند که با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن بر وزن خشک ریشه، ساقه، برگ و نسبت وزن خشک ریشه به ساقه افزوده شد که علت این امر را نیز می‌توان چنین بیان کرد که افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن به بهبود فتوسنتز در گیاه کمک کرده و بدین طریق رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Chen et al., 2019). به بیان دیگر می‌توان چنین گفت که دی‌اکسیدکربن منبع اصلی کربن در گیاه محسوب شده و بطور عمده در سنتز

که دلیل این افزایش را می‌توان چنین بیان کرد که محلول‌پاشی برگ‌های کل‌ها به‌عنوان یک بازدارنده تنفس نوری عمل کرده و با کاهش تنفس نوری موجب می‌شود تا فتوسنتز در گیاه افزایش یافته و در نتیجه پیری برگ به تاخیر افتد و به دنبال آن افزایش در ویژگی‌های رشدی گیاه حاصل شود (Ramirez et al., 2006).

تاریکی تعیین می‌شود که افزایش در تنفس نوری تجمع ماده خشک را کاهش می‌دهد و از آنجایی که کاربرد دی‌اکسیدکربن می‌تواند به کاهش تنفس نوری کمک کند در نتیجه تجمع ماده خشک در گیاه افزایش می‌یابد (Makhdum et al., 2002). محلول‌پاشی اتانول نیز در این تحقیق اثر مثبتی بر افزایش ویژگی‌های رشدی گیاه داشت

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی ریحان رقم کشکنی لولو

Table 3. Mean comparison of interaction carbon dioxide and ethanol on some morphological characteristics of basil Keshkeni luveluo cultivar

CO <sub>2</sub> (ppm)	Ethanol (%v)	Plant height (cm)	Number of branches	Internode length (cm)	Stem diameter (mm)	Fresh weight of aerial part (g/plant)	Dry weight of aerial part (g/plant)
380	0	65.60 <sup>e</sup>	9.0 <sup>e</sup>	8.2 <sup>b</sup>	3.73 <sup>f</sup>	28.21 <sup>e</sup>	5.3 <sup>d</sup>
	10	72.20 <sup>de</sup>	10.3 <sup>e</sup>	9.4 <sup>ab</sup>	5.13 <sup>de</sup>	42.60 <sup>c-e</sup>	9.2 <sup>a</sup>
	20	75.33 <sup>cd</sup>	11.0 <sup>de</sup>	8.6 <sup>ab</sup>	4.91 <sup>e</sup>	37.90 <sup>de</sup>	9.1 <sup>a</sup>
	30	79.66 <sup>a-d</sup>	12.0 <sup>c-e</sup>	9.1 <sup>ab</sup>	4.60 <sup>ef</sup>	35.60 <sup>de</sup>	8.7 <sup>a-c</sup>
700	0	77.50 <sup>a-d</sup>	18.6 <sup>a</sup>	11.0 <sup>a</sup>	6.06 <sup>b-d</sup>	56.03 <sup>bc</sup>	6.2 <sup>b-d</sup>
	10	77.13 <sup>b-d</sup>	14.0 <sup>b-d</sup>	10.6 <sup>ab</sup>	6.91 <sup>ab</sup>	63.56 <sup>ab</sup>	6.7 <sup>cd</sup>
	20	78.00 <sup>a-d</sup>	17.2 <sup>ab</sup>	9.4 <sup>ab</sup>	6.84 <sup>ab</sup>	77.01 <sup>a</sup>	7.7 <sup>a-d</sup>
	30	85.43 <sup>a</sup>	15.7 <sup>ab</sup>	9.5 <sup>ab</sup>	7.30 <sup>a</sup>	78.00 <sup>a</sup>	9.3 <sup>a</sup>
1050	0	83.33 <sup>a-c</sup>	12.0 <sup>c-e</sup>	10.8 <sup>a</sup>	4.60 <sup>ef</sup>	56.05 <sup>bc</sup>	6.5 <sup>cd</sup>
	10	80.50 <sup>a-c</sup>	14.5 <sup>b-d</sup>	11.0 <sup>a</sup>	5.53 <sup>c-e</sup>	50.75 <sup>b-d</sup>	6.3 <sup>b-d</sup>
	20	82.50 <sup>a-c</sup>	14.6 <sup>bc</sup>	10.2 <sup>ab</sup>	6.36 <sup>a-c</sup>	50.98 <sup>b-d</sup>	7.6 <sup>a-d</sup>
	30	83.80 <sup>ab</sup>	15.0 <sup>bc</sup>	9.3 <sup>ab</sup>	4.56 <sup>ef</sup>	66.20 <sup>ab</sup>	8.9 <sup>ab</sup>

در هر ستون اعداد با حداقل یک حرف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.  
In each column, numbers with at least one letter do not differ significantly.

(Moghaddam, 2014). علاوه بر آن می‌توان چنین گفت که محلول‌پاشی کل‌ها مستقیماً بر مسیرهای متابولیکی مربوط به رشد و نمو گیاه تاثیر می‌گذارد و رشد را بهبود می‌بخشد (Dorokhov et al., 2018). محلول‌پاشی متانول با سطح ۴۰ درصد حجمی در گیاه خاکشیر موجب شد تا بیشترین میزان صفات رشدی در این گیاه مشاهده شود که در این تحقیق نیز محلول‌پاشی اتانول موجب بدست آمدن نتایج مشابه گردید (Azimi and Nejatizadeh, 2020). علاوه بر این محلول‌پاشی با کل‌ها موجب افزایش محتوای

Nourafcan و همکاران (۲۰۱۸) در تحقیق خود بر روی گیاه نعنای فلفلی تیمار شده با متانول و اتانول به این نتیجه رسیدند که با افزایش سطح اتانول بر میزان وزن تر و خشک اندام هوایی و طول و عرض برگ این گیاه افزوده شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. این افزایش می‌تواند به این علت رخ دهد که محلول‌پاشی کل‌ها موجب تغییر پتانسیل اسمزی گیاه شده و در نتیجه فشار تورگر و هدایت روزنه‌ای برگ را افزایش داده و باعث افزایش سرعت رشد گیاه می‌شود (Nazari



میلی گرم در لیتر و محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی) سبب وارد شدن تنش به گیاه شده و در نتیجه باعث کاهش عملکرد گیاه در سطوح بالا این تیمارها شد. از آنجاکه اتانل پس از جذب طی فرایندی به دی اکسید کربن تبدیل می شود، بنابراین علت این امر می تواند چنین باشد که دی اکسید کربن در غلظت های بالای خود موجب وارد شدن تنش به گیاه شده و بدین طریق از افزایش عملکرد گیاه جلوگیری می کند (Zbiec et al., 2003).

### ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

بر طبق نتایج موجود در جدول ۴ نشان داده شد که اثر متقابل دی اکسید کربن و اتانول در سطح احتمال یک درصد بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل و محتوای اسانس گیاه مورد مطالعه در این تحقیق معنی دار شد (جدول ۴).

دی اکسید کربن گیاه شده و بدین طریق فعالیت کربوکسیلازی آنزیم رابیسکو را افزایش می دهد و در نتیجه آن فعالیت فتوسنتزی گیاه و ویژگی های رشدی آن بهبود می یابد (Moghaddam et al., 2018). دلیل دیگر افزایش ویژگی های رشدی با کاربرد الکل می تواند این باشد که آسیمیلایون نیتروژن در گیاه در حضور الکل افزایش یافته و به طور قابل توجهی تعداد و اندازه برگ را افزایش می دهد و در نتیجه آن وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه افزایش می یابد (Abanda et al., 2006). علاوه بر آن می توان چنین گفت که محلول پاشی اتانول موجب تسریع مراحل فنولوژیکی گیاه شده و بدین طریق منجر به بلوغ زودرس گیاه می شود و در نتیجه گیاه زودتر به بیشترین رشد اندام هوایی خود می رسد (Samadi Matin and Hani, 2017). افزایش توام غلظت دی اکسید کربن و اتانول (۱۰۵۰

جدول ۴. تجزیه واریانس اثر دی اکسید کربن و اتانول بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ریحان رقم کشکنی لولو

Table 4- Analysis of variance of the effect of carbon dioxide and ethanol on physiological and biochemical traits of basil Keshkeni luvelluo cultivar

Source of Variance	df	Mean of Square						
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Carotenoid	Antioxidant activity	Total phenol	Essential oil content
CO <sub>2</sub>	2	995.17**	230.04**	1558.80**	0.52**	3236.05**	1.77**	0.29**
Ethanol	3	203.95**	131.36**	455.77**	0.21**	297.95**	14.04**	0.03**
CO <sub>2</sub> × Ethanol	6	124.52**	121.42**	372.96**	0.15**	154.54**	0.99**	0.02**
Error	24	5.10	10.22	6.90	0.01	29.60	0.06	0.002

\*\*به ترتیب معنی دار در سطح یک درصد و ۵ درصد

\*and\*\* Significant at 5% and 1% of probability levels respectively

صفات ۷۲/۱۸، ۷۴/۰۱، ۸۲/۰۳ و ۷۱/۳۳ درصد بیشتر بود (شکل ۱- a تا d). علت افزایش رنگیزه های فتوسنتزی با افزایش غلظت دی اکسید کربن تا سطح ۷۰۰ میلی گرم در لیتر می تواند به این علت باشد که افزایش میزان دی اکسید کربن موجب افزایش فعالیت کربوکسیلازی آنزیم رویسکو شده و بدین طریق رنگیزه های فتوسنتزی را افزایش می دهد (Jin et al., 2010). مطابق نتایج حاصل از این تحقیق افزایش غلظت دی اکسید کربن موجب افزایش

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a (۵۱/۶۲ میلی گرم در گرم وزن تر برگ)، کلروفیل b (۳۲/۵۲ میلی گرم در گرم وزن تر برگ)، کارتنوئید (۱/۲۸ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) و کلروفیل کل (۷۹/۵۸ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و محلول پاشی ۲۰ درصد اتانول مشاهده شد که این مقادیر به ترتیب نسبت به کمترین مقدار این

از این تحقیق مطابقت دارد که می‌توان چنین گفت که محلول پاشی الکلی باعث افزایش فشار تورژسانس و محتوای قند در برگ گیاه شده و از این طریق به رشد برگ کمک کرده و به دنبال آن از آنجایی که کلروفیل به‌عنوان یک شاخص کیفیت مهم در گیاه مطرح است و عامل سبزی برگ می‌باشد، لذا میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با کاربرد اتانول از طریق افزایش در رشد برگ، افزایش می‌یابد (Zbiec et al., 2003). اما در مقابل نتایج این تحقیق نشان داد که با رسیدن به بالاترین سطح دی‌اکسیدکربن و اتانول از میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کاسته شد که علت این امر را می‌توان چنین بیان کرد که غلظت بالای اتانول و دی‌اکسیدکربن می‌تواند سبب وارد شدن تنش به گیاه شده و بدین طریق می‌تواند رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه را کاهش دهد (Zbiec et al., 2003).

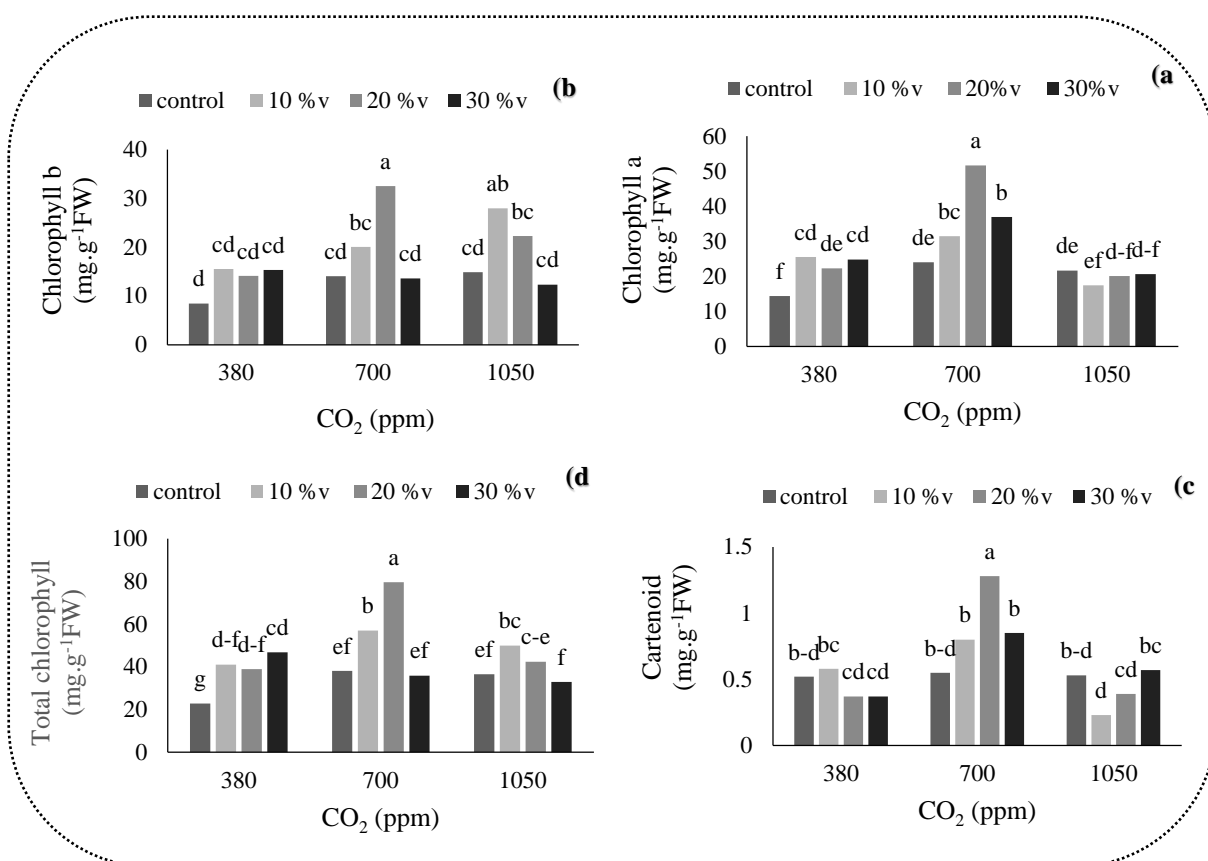
نتایج این تحقیق همچنین حاکی از این امر بود که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۳/۸۶ درصد) و فنل کل (۵/۲۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در سطح ۷۰۰ میلی-گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن و محلول پاشی ۲۰ درصد حجمی اتانول مشاهده شد؛ اما تفاوت معنی‌داری با سطح ۳۰ درصد حجمی اتانول نداشت (شکل ۲ a و b). بطور کلی مطالعات پیشین نشان داده است که کاربرد دی‌اکسیدکربن موجب افزایش تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنل کل در گیاه می‌شود (Dong et al., 2018) که مطابق نتایج حاصل از این تحقیق است. Becker و Klaring (۲۰۱۶) در تحقیق خود بر روی کاهو افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل را با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن گزارش کردند. علت این امر را می‌توان چنین بیان کرد که دی‌اکسیدکربن در افزایش ظرفیت هدایت NADPH در گیاه نقش داشته و بدین طریق می‌تواند موجب حفظ غلظت بالاتر آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه شود (Xu et al., 2015). همچنین گزارش شده که محلول پاشی با الکل‌ها تاثیر مثبتی بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل در گیاه ریحان (Moghaddam et

فتوستتزر و رنگیزه‌های فتوستتزی در چمن گردید؛ اما با این حال با افزایش بیش از حد آن از میزان فتوستتزر کاسته شد (Zheng et al., 2019) که می‌تواند به علت تغییر در ترکیبات شیمیایی برگ از جمله افزایش کربوهیدرات‌های غیرساختاری در اثر غلظت بالای دی‌اکسیدکربن باشد (Zheng et al., 2019). همچنین بهبود رنگیزه‌های فتوستتزی در این تحقیق با کاربرد دی‌اکسیدکربن را می‌توان اینگونه توجیه کرد که کاربرد دی‌اکسیدکربن موجب می‌شود تا نسبت دی‌اکسیدکربن به اکسیژن افزایش یابد چرا که دی‌اکسیدکربن بیشتری در اختیار برگ قرار می‌گیرد و این افزایش موجب می‌شود تا بر میزان فتوستتزر افزوده شده و از میزان تنفس نوری و تولید گونه‌های آزاد اکسیژن کاسته شود و این امر موجب حفظ بیشتر رنگیزه‌های فتوستتزی خواهد شد (Singh and Madhoolika, 2014). در این تحقیق مشاهده شد که محلول پاشی اتانول به‌ویژه تا سطح ۲۰ درصد حجمی رنگیزه‌های فتوستتزی را افزایش داد که مطابق با نتایج این تحقیق محلول پاشی با الکل‌ها رنگیزه‌های فتوستتزی را در بادرنجبویه (Khosravi, 2011)، ریحان (Moghaddam et al., 2018) و شمعدانی عطری (Vojodi Mehrabani, 2019) نیز افزایش داد. علاوه بر این کاربرد ترکیبات الکلی از تولید اتیلن در گیاه کاسته و بدین طریق پیری برگ را به تاخیر می‌اندازد و در نتیجه موجب می‌شود تا رنگیزه‌های فتوستتزی در برگ حفظ شود (Heins, 1980).

گیاهان می‌توانند الکل محلول پاشی شده بر روی برگ‌های خود را به راحتی جذب کرده و از آن به‌عنوان منبع کربن استفاده کنند که بهترین اثر آن‌ها در گیاه می‌تواند کاهش اثر تنش‌های القا شده به گیاه در اثر تنفس نوری باشد که این نقش خود را می‌تواند از طریق حفظ ساختار کلروفیل‌ها ایفا نماید (Hosseinzadeh et al., 2016). Samadimatin و Hani (۲۰۱۷) در تحقیق خود بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه افزایش رنگیزه‌های فتوستتزی را در اثر محلول پاشی با اتانول نشان دادند که با نتایج حاصل

که روند بهبود صفات کاهش یابد (Lee et al., 1995). همچنین Moghaddam و همکاران (۲۰۱۸) نیز این کاهش در بهبود صفات را در غلظت‌های بالای اتانول در گیاه ریحان گزارش کردند که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

(al., 2018) دارد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. علت این امر را نیز می‌توان به نقش اتانول در افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در گیاه نسبت داد (Vojodi (mehrabani et al., 2019). همچنین مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق در تحقیقات پیشین نشان داده شد که افزایش سطح اتانول به بیشتر از ۲۵ درصد حجمی موجب می‌شود



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول بر کلروفیل a (a)، b (b)، کارتنوئید (c) و کلروفیل کل (d) ریحان رقم کشکنی لولو

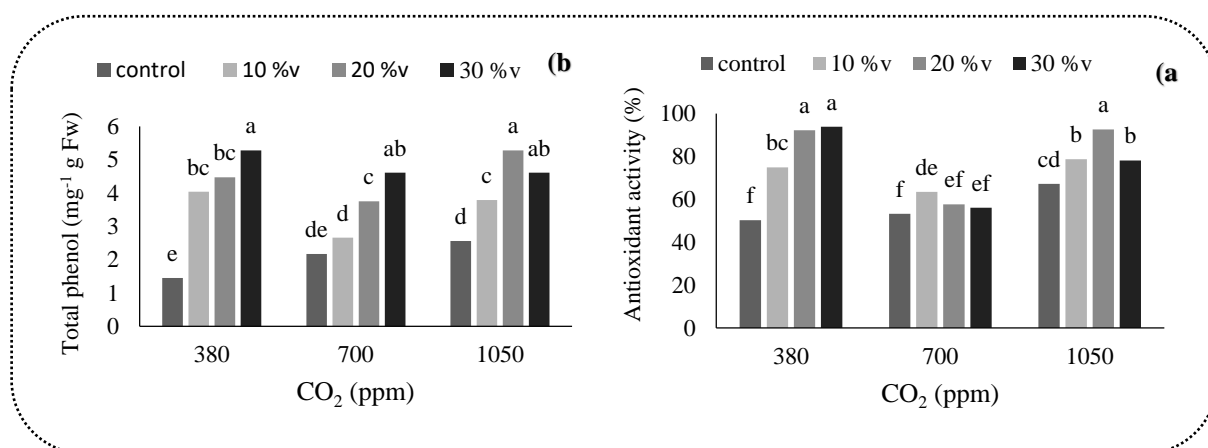
Figure 1 Mean comparison of carbon dioxide and ethanol interactions on chlorophyll a (a), b (b), carotenoid (c) and total chlorophyll (d) of basil Keshkeni luvluo cultivar

حجمی-وزنی) در سطح ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن و عدم محلول‌پاشی اتانول مشاهده شد. مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق محلول‌پاشی با اتانول سبب افزایش معنی‌دار میزان اسانس در شمعدانی عطری (Vojodi Mehrabani, 2019)، نعنای لفللی (Nourafcan et al., 2018)، اسطوخودوس (Bagheri et al., 2014) و بادرشبو (Samadimatin and Hani, 2017) شد. Nguyen و

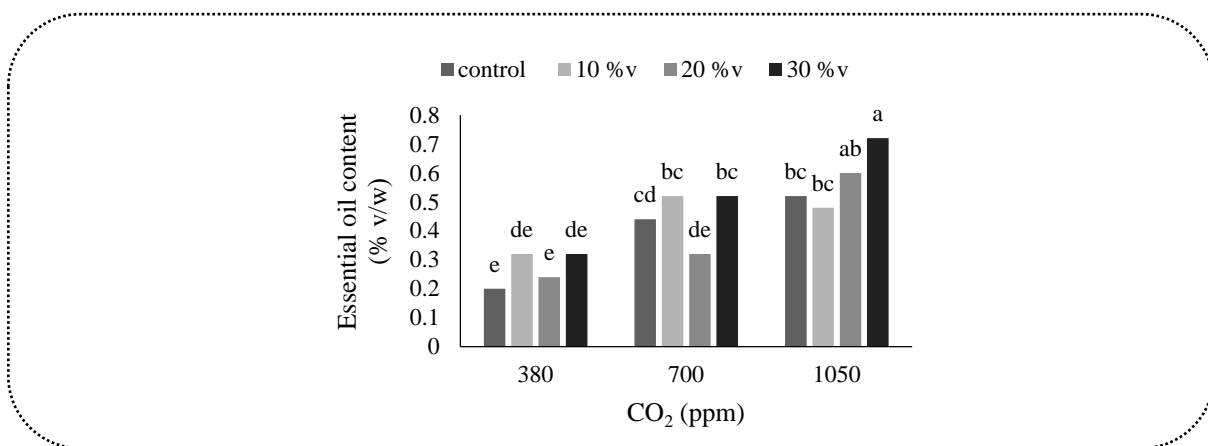
اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول بر محتوای اسانس نشان‌دهنده این امر بود که با افزایش سطح اتانول و دی‌اکسیدکربن بر میزان اسانس گیاه افزوده شد، بطوریکه سطح ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسیدکربن و محلول‌پاشی اتانول با غلظت ۳۰ درصد حجمی موجب شد تا بیشترین میزان اسانس (۰/۷۲ درصد حجمی-وزنی) حاصل شود و این درحالی بود که کمترین میزان آن (۰/۲۰ درصد

که به‌عنوان یک محرک زیستی شناخته می‌شوند یکی از روش‌های مهم رساندن موادغذایی به گیاهان است چراکه سرعت جذب بالایی داشته و زود به نتیجه می‌رسد و در نتیجه عملکرد کمی و کیفی گیاهان را بالا برده و بنابراین محتوای اسانس گیاه را افزایش می‌دهد (Nourafcan et al., 2018). دی‌اکسیدکربن نیز با نقش در افزایش رشد و نمو و نرخ فتوسنتز گیاه می‌تواند در افزایش محتوای اسانس گیاه نقش مثبتی داشته باشد بدین صورت که با کاربرد دی‌اکسیدکربن نسبت کربن به نیتروژن در گیاه افزایش یافته و در نتیجه میزان بیشتری از کربوهیدرات‌های گیاه به تولید متابولیت‌های ثانویه اختصاص داده می‌شود (Tisserat and Vaughn, 2001).

همکاران (۲۰۱۷) چنین بیان کردند که استفاده از الکل‌ها با تاثیر بر متابولیت گیاهی می‌تواند به بیوسنتز و تجمع اسانس‌ها در گیاه کمک کند و آن را افزایش دهد و به بیان دیگر می‌توان چنین گفت الکل‌ها با نقش در تحریک رشد و کاهش تنفس نوری می‌توانند در تغییر محتوای فیتوشیمیایی گیاه نیز تاثیر گذاشته و موجب شوند تا بخش بیشتری از مواد گیاه صرف ساخت متابولیت‌های ثانویه (اسانس‌ها) شود. همچنین می‌توان چنین گفت که اتانول در گیاه به استیل کوآنزیم A تبدیل شده که این ترکیب در بیوسنتز ترپن‌ها از طریق مسیر مولونیک اسید نقش اساسی دارد. بنابراین محلول‌پاشی آن، محتوای اسانس گیاه را افزایش می‌دهد (Sarabandi, 2017). محلول‌پاشی الکل‌ها



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی (a) و فنل کل (b) ریحان رقم کشکنی لولو  
Figure 2. Mean comparison of interaction carbon dioxide and ethanol on antioxidant activity (a) and total phenol (b) of basil Keshkeni luveluo cultivar



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل دی‌اکسیدکربن و اتانول بر محتوای اسانس ریحان رقم کشکنی لولو  
Figure 3. Mean comparison of interaction carbon dioxide and ethanol on essential oil content of basil Keshkeni luveluo cultivar

## نتیجه گیری

ذخیره اسانس در گیاه نیز اثر افزایشی داشت. بنابراین با توجه به این نتایج می توان گفت که کاربرد تیمار ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و ۲۰ درصد حجمی اتانول در شرایط کشت گلخانه ای می تواند به عنوان نوعی تحریک کننده رشد و عملکرد گیاه عمل کرده و شرایط گیاه را بهبود بخشد بنابراین کاربرد آن ها در کشت های گلخانه ای توصیه می شود.

## سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از دانشگاه فردوسی مشهد کمال تشکر و قدردانی را جهت حمایت های مالی و معنوی دارند.

در این تحقیق به بررسی اثر سطوح مختلف دی اکسید کربن و اتانول بر برخی ویژگی های رشدی و رنگیزه های فتوسنتزی، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل و میزان اسانس ریحان رقم کشکنی لولو پرداخته شد. نتایج نشان داد که اعمال این تیمارها به ویژه تا سطح ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن و ۲۰ درصد حجمی اتانول بر تمامی صفات مورفولوژی اندازه گیری شده اثر افزایشی برجای گذاشت. همچنین موجب شد تا با تاثیر این ترکیبات بر رنگیزه های فتوسنتزی، بر میزان متابولیت گیاهی و فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نیز افزوده شود. علاوه بر این کاربرد اتانول و دی اکسید کربن بر بیوستتر و

## منابع

- Abanda, D., Nkpwat, D., Musch, M., Tschiersch, J., Boettne, M., and W. Schawb. 2006. Molecular interaction between methylobacterium extorquens and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. *Journal of Experimental Botany*. 57(15): 4025-4032.
- Azimi, F., and F. Nejatizadeh. 2020. Effect of methanol spraying on seed yield and mucilage of flaxweed (*Descurainia sophia* L.). *Plant Productions*. 43(1): 81-92. (In Persian).
- Babaei, K., Moghaddam, M., and N. Farhadi. 2021. Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. *Scientia Horticulturae* 284: 110116.
- Bagheri, H., Ladan Moghadam, A.R., and H. Afshari. 2014. The effects of foliar application of methanol on growth and secondary metabolites in lavender. *International Research Journal of Applied and Basic Science*. 8(2): 150-152.
- Becker, C., and H.P. Kläring. 2016. CO<sub>2</sub> enrichment can produce high red leaf lettuce yield while increasing most flavonoid glycoside and some caffeic acid derivative concentrations. *Food Chemistry*. 199: 736-745.
- Broberg, M.C., Högy, P., Feng, Z., and H. Pleijel. 2019. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on wheat yield: non-linear response and relation to site productivity. *Agronomy*. 9(243): 2-18.
- Chen, W., Zhu, D., Ciais, Ph., Huang, C., Viovy, N., and M. Kageyama. 2019. Response of vegetation cover to CO<sub>2</sub> and climate changes between last glacial maximum and pre-industrial period in a dynamic global vegetation model. *Quaternary Science Review*. 218(15): 293-305.
- Cruz, J.L., Alfredo A.C., Daniel R., LeCain, D. Ellis, J., and A. Morgan. 2016. Elevated CO<sub>2</sub> concentrations alleviate the inhibitory effect of drought on physiology and growth of cassava plants. *Scientia Horticulturae*. 210(10): 122-129.
- Dong, J.L., Xu, Q., Gruda, N., Chu, W.Y., Li, X., and Z.Q. Duan. 2018. Elevated and super-elevated CO<sub>2</sub> differ in their interactive effect with nitrogen availability on fruit yield and quality of cucumber. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98: 4509-4516.
- Dorokhov, Y.L., Sheshukova, E.V., and T.V. Komarova. 2018. Methanol in plant life. *Frontiers in Plant Science* 9: 1623
- Durchan, M., Vácha, F., and A. Krieger-Liszkay. 2001. Effects of severe CO<sub>2</sub> starvation on the photosynthetic electron transport chain in tobacco plants. *Photosynthesis Research*. 68(3): 203-210.

- Haakana, K., Saerckae, L., and S. Somersalo. 2001. Gaseous ethanol penetration of plant tissues positively effects the growth and commercial quality of miniature roses and dill. *Scientia Horticulturae*. 88: 125-31.
- Heins, R. 1980. Inhibition of ethylene synthesis and senescence in carnation by ethanol. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 105(1): 141-144.
- Hossinzadeh, S.R. Salimi, A. Ganjeali, A., and R. Ahmadpour. 2016. Effects of foliar application of methanol on photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology*. 5(18): 115-132.
- Jin, C., Du, S., Wang, Y., Condon, J., Lin, X., and Y. Zhang. 2010. Carbon dioxide enrichment by composting in greenhouses and its effect on vegetable production. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 172: 418-424.
- Keeling, C.D., and T.P. Whorf. 2005. Atmospheric CO<sub>2</sub> records from sites in the SIO air sampling network, in trends: a compendium of data on global change, carbon dioxide information analysis center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tenn., U.S.A.
- Khosravi, E. 2011. Effect of methanol and ethanol on yield and quality of *Melissa officinalis* L. Master`s thesis. Department of Horticulture Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Karaj, Iran.
- Labra, M. 2004. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*. 167: 725-7321.
- Larzqadiri, M., Mehrafarin, A., Naqdebadi, H.A., and F. Khaliqisigaroodi. 2013. The effect of different concentrations of methanol and ethanol on some characteristics of *Plantago psyllium*. *Proceedings of the First National Conference of Medicinal Plants and Sustainable Agriculture*. Hamedan, Iran 5 pp.
- Li, W., Lu, C., Ding, Y., and Y.W. Zhang. 2017. The impacts of policy mix for resolving overcapacity in heavy chemical industry and operating national carbon emission trading market in China. *Applied Energy*. 204: 509-24.
- Li, X., Dong, J., Nazim S., Gruda, Chu, W., and Z. Duan. 2020. Interactive effects of the CO<sub>2</sub> enrichment and nitrogen supply on the biomass accumulation, gas exchange properties, and mineral elements concentrations in cucumber plants at different growth stages. *Agronomy*. 10(139): 2-21.
- Makhdum, M.I., Malik, M.N.A., Din, S.U., Ahmad, F., and F.I. Chaudhry. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. *Journal of Research in Science* 13: 37-43. (In Persian).
- Mehdzadeh, L., Farsaraei, S., and M. Moghaddam. 2021. Biochar application modified growth and physiological parameters of *Ocimum ciliatum* L. and reduced human risk assessment under cadmium stress. *Journal of Hazardous Materials* 409: 124954.
- Mirseyed Hosseini, H., Kouhestani, M., Fathi Gerdelidani A., and M.R. Bihamta. 2018. Effect of increasing atmospheric CO<sub>2</sub> concentration and nitrogen on growth and uptake of nutrients in wheat. *Journal of Soil Management and Sustainable*. 7(4): 19-43.
- Mishra, A.K., and M. Verma. 2013. A mathematical model to study the dynamics of carbon dioxide gas in the atmosphere. *Applied Mathematics and Computation*. 219: 8595-8609.
- Moghaddam, M., Narimani R., Rostami Gh., and S. Mojarab. 2018. Studying the effect of foliar application of methanol and ethanol on morphological and biochemical characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* c.v. Keshkeni luvellou). *Iranian Journal of Field Crops Research*. 16(2): 345-354.
- Morison, J.I.L., and D.W. Lawlor. 1999. Interactions between increasing CO<sub>2</sub> concentration and temperature on plant growth. *Plant, Cell and Environment*. 22: 659-682.
- Nazari Moghaddam, R. 2014. Effects of methanol and ethanol on essential oil and growth of dill (*Anethum graveolens* L.). Master Thesis, Islamic Azad University, Miyaneh Branch: Miyaneh, Iran.
- Nguyen, H.M., Sako, K., Matsui, A., Suzuki, Y., Golam Mostafa, M., Ha, C.V., Tanaka, M., Tran, L.S.P., Habu, Y., and M. Seki. 2017. Ethanol enhances high-salinity stress tolerance by detoxifying reactive oxygen species in *Arabidopsis thaliana* and rice. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1001
- Nourafcan, H., Kalantari, Z., and F. Sefidkon. 2018. The effect of methanol and ethanol foliar application on essential oil composition of peppermint. *Agroecology Journal*. 14(2): 9-18. (In Persian).
- Omidbagi, R. 2007. Production and processing of medicinal plants (Volume 1). Behnashr publications. Tehran. (In Persian).

- Pospisilova, J., Synková, H., Haisel, D., and S. Semorádová. 2007. Acclimation of plantlets to ex vitro conditions: effects of air humidity, irradiance, CO<sub>2</sub> concentration and abscisic acid (a review). *Acta Horticulturae*, 748: 29-38.
- Ramirez, I., Dorta, F., Espinozo, V., Jimenez, E., Mercad, A., and H. Penacortes. 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation*. 25(1): 30-44.
- Sajedi Moghadam, S., Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Pazoki, AR., and N. Qavami. 2012. Evaluation of phytochemical yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under foliar application of hydroalcohols. *Journal of Medicinal Plants*. 4(44): 130-140. . (In Persian).
- Samadimatin, A., and A. Hani. 2017. Effect of ethanol and humic acid foliar spraying on morphological traits, photosynthetic pigments and quality and quantity of essential oil content of. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 8(1): 2299- 2306. (In Persian).
- Sarabandi, A. 2017. Phytochemical investigation of *Ducrosia anethifolia* under foliar application of hydroalcohols. master's thesis. Department of the University of Sistan & Baluchestan. (In Persian).
- Shoor, M., and F. Mondani. 2012. Effect of elevated CO<sub>2</sub> in different fertilizer conditions on physiological traits in lemon balm (*Melissa officinalis*) at greenhouse. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 10(1): 133-142.
- Singh, A., and A. Madhoolika. 2015. Effects of ambient and elevated CO<sub>2</sub> on growth, chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, antioxidants, and secondary metabolites of *Catharanthus roseus* (L.) G Don. grown under three different soil N levels. *Environmental Science and Pollution Research*. 22: 3936-3946.
- Soltani, Z., Dianati Daylami, D., Aliniaiefard, S., and S. Rostami. 2020. Effects of different concentrations of CO<sub>2</sub> in the atmosphere of in vitro culture vessels on growth characteristics and photosynthetic capacity of *Epipactis veratrifolia*. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 51(1): 45-54. (In Persian).
- Svoboda, K.P., and J.B. Hampson. 1999. Bioactivity of essential selected oils of temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. IENICA Conference, Specialty Chemicals for the 21<sup>st</sup> Century. Intermediary Products, Cosmetics, Perfumes, and Medicinal Applications. pp: 1-17.
- Tisserat, B., and S.F. Vaughn. 2001. Essential oils enhanced by ultra-high carbon dioxide levels from Lamiaceae species grown in vitro and in vivo. *Plant Cell Reports* 20:361-368.
- Urbonavičiūtė, A., Samuolienė, G., Sakalauskaitė, J., Duchovskis, P., Brazaitytė, A., Šikšnienienė, J.B., Ulinskaitė R., Šabajevienė, G., and K. Baranauskis. 2006. The Effect of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on leaf carbohydrate, chlorophyll contents and photosynthesis in radish. *Polish Journal of Environmental Studies*. 15(6): 921-925.
- Vojodi Mehrabani, L. 2019. The effects of methanol and ethanol foliar application under salinity stress on some physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. *Journal of Plant Physiology and Breeding*. 9(1): 63-73.
- Wang, M., Xie, B., Fu, Y., Dong, Ch., Hui, L., Liu, G., and Liu, H. 2015. Effects of different elevated CO<sub>2</sub> concentrations on chlorophyll contents, gas exchange, water use efficiency and PSII activity on C3 and C4 cereal crops in a closed artificial ecosystem. *Photosynthesis Research*. 126: 351-362.
- Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144(3): 307-313.
- Xu, Z., Jiang, Y., and G. Zhou. 2015. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO<sub>2</sub> with environmental stress in plants. *Frontiers in Plant Science*. 6: 701-715.
- Zheng, Y., Li, F., Hao, L., Shedayi, A.A., Guo, L., Ma, C., Huang, B., and M. Xu. 2019. The optimal CO<sub>2</sub> concentrations for the growth of three perennial grass species. *BMC Plant Biology*. 18(27): 2-12.
- Zbiec, I., Karczmarczyk, S., and C. Podsiadlo. 2003. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 6(1): 1-7.