

## تأثیر محلول پاشی متانول و سولفات منگنز بر میزان و اجزای اسانس بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

هانیه حدادی<sup>۱\*</sup>، پژمان مرادی<sup>۲</sup>، الهام مطلبی<sup>۳</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی - فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، ادویه‌ای و عطری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
  - ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، گروه علوم باغبانی، ساوه، ایران
  - ۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گروه خاکشناسی، گرمسار، ایران
- \*آدرس مکاتبه: تهران، حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، ساختمان ابن سینا، گروه علوم باغبانی  
تلفن: ۰۹۱۲۷۲۰۸۹۳۰  
پست الکترونیک: ha\_haddadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۱۹

تاریخ تصویب: ۹۴/۷/۱۲

### چکیده

مقدمه: بادرنجبویه از گیاهان دارویی با ارزش و متعلق به تیره نعنائیان می‌باشد. به منظور بهینه کردن سیکل تولید متابولیت‌های ثانویه این گیاه در این پژوهش اقدام به کشت و بررسی تولید ماده خشک و میزان سنتز ترکیبات دارویی آن بوسیله اعمال تیمارهای متانول و سولفات منگنز شد.

هدف: با توجه به فراهم آوردن شرایط افزایش توان فتوسنتزی از طریق منبع جدید کربن و ریز مغذی منگنز و کاهش هدررفت انرژی‌های متابولیکی می‌توان انتظار افزایش مقدار مواد مؤثره را داشت که با تعیین بهترین توصیه محلول‌پاشی متانول و استفاده از سولفات منگنز بر روی گیاه مذکور حاصل خواهد شد.

روش بررسی: این آزمایش در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اجرا شد. این طرح در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۱۲ تیمار و سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار سطح الکل متانول (صفر، ۱۰، ۲۰، و ۴۰ درصد حجمی) و سه سطح سولفات منگنز (صفر، ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر) بود. محلول پاشی متانول بعد از کاشت نشاء و استقرار گیاهچه‌ها سه مرتبه با فاصله ۱۵ روز و در اواسط روز انجام شد و محلول پاشی منگنز یکبار در اولین نوبت محلول‌پاشی متانول صورت گرفت. با آغاز گلدهی اندام برداشت شد و اسانس‌گیری از اندام هوایی به عمل آمد. اسانس‌های هر تیمار توسط دستگاه GC و GC/MS آنالیز شد.

نتایج: طبق نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، اثر متقابل متانول و سولفات منگنز بر درصد و عملکرد اسانس در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از بررسی طیف‌های GC و GC/MS نشان داد که بیشترین درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس بادرنجبویه مربوط به کاربرد همزمان متانول ۴۰ درصد حجمی و سولفات منگنز ۰/۵ گرم بر لیتر بود.  
گل‌واژگان: *Melissa officinalis*، اسانس، ترکیبات اسانس، سولفات منگنز، متانول، محلول‌پاشی



## مقدمه

رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی و غذایی و به دنبال آن توجه مردم، مسئولین و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر، نیاز مبرم به تحقیقات پایه‌ای و کاربردی وسیعی را در این زمینه نمایان می‌سازد [۱]. لذا به همین منظور در این پژوهش به کشت و پرورش و بررسی میزان سنتز ترکیبات دارویی و تولید ماده خشک یکی از گیاهان دارویی بسیار ارزشمند به نام بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) که از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است بواسطه اعمال تیمارهای متانول و سولفات منگنز، پرداخته شده است. بادرنجبویه به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه و اهمیت بسیاری که در مصارف پزشکی، صنایع آرایشی و بهداشتی و نیز صنایع غذایی دارد، بسیار مورد توجه است. کاربرد این گیاه دارویی در تولید مواد آرایشی، بهداشتی و غذایی در جهان گسترش یافته است، بنابراین استفاده از تکنیک‌های اصلاحی در اصلاح گیاهان دارویی و بهبود کمیت و کیفیت ویژگی‌های مواد مؤثره مهم موجود در آنها جهت تولید گیاهان دارویی پربازده امری ضروری است [۲].

مواد غیر الکترولیت آلی یعنی مواد محلول فاقد بار الکتریکی نظیر الکل‌ها به صورت غیر یونیزه در محلول آب وجود دارند و به دلیل حلالیتشان در مواد تشکیل‌دهنده غشاء به راحتی داخل غشاهای پروتوپلاسمی نفوذ می‌کنند. متانول از طریق حل کردن مواد لیپیدی موجود در غشای پلاسمایی از آن عبور کرده و وارد پروتوپلاسم سلول می‌شود. متانول ۳۰ برابر بیشتر از اوره در چربی‌ها محلول تر است و با سرعت حدود ۳۰۰ برابر اوره وارد سلول‌های گیاهی می‌شود. بنابراین متانول، اتانول و سایر الکل‌ها به صورت غیرفعال و از طریق انتشار ساده از غشاء جذب سلول‌های گیاه می‌شوند. سرعت جذب مستقیماً به غلظت الکل‌ها بستگی دارد. مقدار متانول واقعی جذب شده بسته به نوع بافت گیاهی متفاوت است. مقداری از متانول در حضور نور اکسید می‌شود و آب و دی‌اکسید کربن بیشتری به گیاه تزریق می‌کند و افزایش غلظت دی‌اکسید کربن در برگ‌ها را به همراه دارد و باعث سرعت بخشیدن فتوسنتز

در گیاه می‌شود. در کل متانول در مقایسه با دی‌اکسید کربن، مولکول کوچکتری است که می‌تواند توسط گیاهان سه کربنه برای افزایش فتوسنتز مورد استفاده قرار گیرد [۳]. محلول پاشی متانول باعث تأخیر در پیری برگ‌ها از طریق اثر بر روی محرک‌های تولید اتیلن در گیاه می‌شود که این امر موجب افزایش دوره فعال فتوسنتزی و دوام سطح برگ می‌شود. افزایش غلظت متانول در بافت‌های گیاهی، سرعت متابولیسی فعالیت‌های آنها را تنظیم می‌کند و بر بازده تبدیل کربن و مسیرهای متابولیسی مربوط به تبدیل کربن اثر می‌گذارد. در شرایط کاربرد پی در پی متانول با غلظت‌های کم روی گیاهان ابتدا سرعت متابولیسی تنفس در آنها زیاد شده و سپس سرعت متابولیسی تنفس کاهش می‌یابد. بنابراین اثر متانول به کاربرده شده روی گیاهان، تابعی از زمان و شدت محلول پاشی می‌باشد. کاربرد دوره‌ای و با فاصله زمانی معین متانول روی گیاه باعث می‌شود که تا حدی سرعت متابولیسی تنفس گیاه افزایش یابد [۴].

اولین شرط جهت دستیابی به عملکرد بالا در واحد سطح، تولید ماده خشک زیاد است. زیرا حدود ۹۰ درصد وزن خشک گیاهان ناشی از آسیمیلاسیون CO<sub>2</sub> توسط فتوسنتز است، در نتیجه افزایش سرعت تثبیت CO<sub>2</sub> برای بالابردن ظرفیت تولید گیاهان زراعی می‌تواند مفید باشد [۸ - ۵]. یکی از این راهکارها استفاده از ترکیباتی نظیر متانول در جهت افزایش تولید گیاهان سه کربنه است. مهم‌ترین فایده ناشی از مصرف این ترکیب، جلوگیری و یا کاهش تنفس نوری ناشی از تنش‌های القا شده به گیاهان است. متانول ماده‌ای کاملاً شناخته شده در گیاهان می‌باشد زیرا این ماده یکی از ساده‌ترین فرآورده‌های گیاهی بوده که توسط اکثر گیاهان خصوصاً طی مراحل اولیه بزرگ شدن برگ‌ها در اثر دمتیلاسیون پکتین، تولید و به محیط اطراف آنها انتشار می‌یابد [۱۱ - ۹].

منگنز عنصر ضروری کم مصرفی است که از نظر وظایف بیوشیمیایی در گیاه شبیه منیزیم عمل می‌کند. هر دو یون، ATP را با کمپلکس آنزیمی (فسفوکینازها و فسفوترانسفرازها) پیوند می‌دهند، در حالی که پیوندی که توسط منگنز تشکیل می‌شود، با پیوندی که توسط منیزیم تشکیل می‌شود، کمی متفاوت است. دکربوکسیلازها و دهیدروژنازهای چرخه کربس



میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم بوده و بیشترین ترکیب اسانس را سیترونال، ژرانیل، ژرانیل، ژرانیل‌استات، لینالول، لینالیل‌استات و لیمونین تشکیل داده است [۲۳].

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات به مختصات  $35^{\circ} 47' 26.64'' N$ ,  $51^{\circ} E$  45.48' 18' به اجرا در آمد. این طرح به صورت یک آزمایش مزرعه‌ای در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی (Randomized Complete Block Design (RCBD)) با ۱۲ تیمار و در سه تکرار انجام شد.

فاکتورها عبارت بودند از: (جدول شماره ۱)

الف- متانول: در چهار سطح صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد حجمی

ب- سولفات منگنز: در سه سطح صفر، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر

ابتدا اقدام به کشت بذر بادرنجبویه در خزانه شد بذر کشت شده پس از ۸ روز تحت شرایط گلخانه جوانه زده وقتی گیاهچه با اندازه ۸ تا ۱۲ سانتی‌متری و یا ۶ تا ۸ برگه رسید، اقدام به انتقال گیاهچه‌ها به زمین اصلی موردنظر شده (جدول شماره ۲) و بلافاصله نسبت به آبیاری زمین اقدام شد. قالب طرح مورد استفاده، بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار، ابعاد هر کرت  $3 \times 2 = 6$  مترمربع، فاصله پشته‌ها از هم ۴۰ سانتی‌متر و فاصله

۲ بوته در روی هر خط ۳۰ سانتی‌متر بود

تیمارهای موردنظر طی سه مرحله به قرار زیر اعمال شدند: مرحله اول تیماردهی در فروردین ماه سال ۱۳۹۲ بعد از کاشت و استقرار کامل نشاها، در هفته سوم کشت بوده است. مرحله دوم تیماردهی در اواسط فصل رویشی قبل از مرحله گلدهی در هفته ششم کاشت بوده است.

مرحله سوم اعمال تیمار، در زمان شروع گلدهی (هفته دهم) بوده

است

جدول شماره ۱- علایم اختصاری

تیمارها	$m_0s_0$	$m_0s_1$	$m_0s_2$	$m_1s_0$	$m_1s_1$	$m_1s_2$	$m_2s_0$	$m_2s_1$	$m_2s_2$	$m_3s_0$	$m_3s_1$	$m_3s_2$
متانول (درصد حجمی)	۰	۰	۰	۱۰	۱۰	۱۰	۲۰	۲۰	۲۰	۴۰	۴۰	۴۰
سولفات منگنز (گرم در لیتر)	۰	۰/۵	۱	۰	۰/۵	۱	۰	۰/۵	۱	۰	۰/۵	۱

نیز توسط منگنز فعال می‌شود، منگنز با فعال ساختن ایندول استیک اسید اکسیدازها سبب اکسایش ایندول استیک اسید می‌شود. وجود منگنز در فتوسیستم II که در واکنش‌های تجزیه آب شرکت می‌کند نیز ضروری به شمار می‌رود [۱۲]. منگنز در گیاه نقش مهمی در پروسه‌های اکسیداسیون و احیا مانند انتقال الکترون در فتوسنتز بازی کرده و علاوه بر آن به عنوان فعال‌کننده بسیاری از آنزیم‌ها که با متابولیسم کربوهیدرات‌ها، واکنش‌های فسفری شدن و چرخه اسیدسیتریک سروکار دارند، نقش دارد [۱۳]. با این حال، غلظت‌های بالای منگنز برای گیاه سمی بوده، در برخی از خاک‌ها، از جمله خاک‌های اسیدی و آتشفشانی، احیای بیش از حد آن سمیت منگنز را به دنبال دارد. کمبود منگنز از لحاظ جغرافیایی پراکندگی وسیعی دارد. اما در مجموع خاک‌های آهکی، خاک‌های با pH بالا (که عمدتاً در مناطق خشک و نیمه خشک جهان گسترده‌اند) و بخصوص خاک‌های با تهویه ضعیف و ماده آلی زیاد، عمدتاً با مشکل کمبود منگنز مواجه هستند [۱۴].

در بررسی‌های مختلفی که توسط محققان صورت گرفته، در اسانس بادرنجبویه تا ۶۶ ترکیب اسانسی، ۳۷ مونوترپن و ۲۰ سسکوئی‌ترین شناسایی شده است. اکثر محققان برای اسانس‌گیری از گیاه تر، از روش تقطیر با بخار آب و برای اسانس‌گیری از گیاه خشک از روش تقطیر با آب استفاده کرده‌اند. بیش از ۷۰ درصد اسانس برگ‌های بادرنجبویه شامل سیترونال، ژرانیل، استات ژرانیل، اسیدهای فنولیک یک کربنه و فلاونوئیدها، لوتولین-۷ گلوکوزیدورمانازین می‌باشد [۲۱ - ۱۵].

در کوبا اسانس بادرنجبویه با استفاده از GC/MS تجزیه و مشاهده شد که ۴۱ درصد آن را ژرانیل و ۲۹ درصد اسانس را نرال تشکیل داده است [۲۲]. در لهستان برای اسانس‌گیری از روش بخار آب و برای تجزیه اسانس از GC/MS استفاده نموده و مشاهده کردند که میزان اسانس گیاه بین ۰/۰۶ تا ۰/۲۵



جدول شماره ۲- مشخصات خاک مزرعه تحقیقاتی از عمق ۱۵ - ۰ سانتی متری

نوع تجزیه	شوری (Ec) ds/m	اسیدیته (pH)	کربنات کلسیم معادل (TNV) درصد	کربن آلی (OC) درصد	ازت کل (N) درصد	فسفر قابل جذب P(ava) ppm	پتاسیم قابل جذب K(ava) ppm	رشد (C) درصد	سیلیت (Si) درصد	شبن (S) درصد	بافت (Tex)	روی (Zn) ppm	آهن (Fe) ppm	منگنز (Mn) ppm	مس (Cu) ppm
عمق ۱۵-۰ سانتی متری	۴/۲۳	۷/۳۷	۷/۱۰	۱/۸۳۹	۵۳/۲۷۲۲	۸۷/۹۰	۷۲۴/۳۹	۱۲	۲۱	۶۷	لوم شنی	۳/۶۲۵	۶/۷۰۷	۳/۵۱۱	۰/۹۹۱

کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) به تفکیک از نوبی GC با مدل Agilent 6890 و MASS با مدل Agilent 5973 تزریق شد. مقدار درصد ترکیبات اسانس نیز با گزارش دستگاه GC با مدل Younglin Acne6000 مشاهده شد. تجزیه آماری داده‌های آزمایش مبتنی بر آزمایش فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی توسط نرم‌افزار SPSS انجام و کلیه گراف‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد و مقایسه میانگین‌ها مربوط به سطوح متانول و سولفات منگنز و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) انجام شد (جدول شماره‌های ۴، ۵، ۶).

## نتایج

### درصد اسانس

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمایش، اثر متقابل متانول و سولفات منگنز بر درصد اسانس، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول شماره ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان دادند که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار متانول ۴۰ درصد همراه با سولفات منگنز ۰/۵ گرم بر لیتر (m<sub>3</sub>Si) بود. این تیمار با میانگین ۰/۴۴ درصد اسانس نسبت به شاهد به میزان ۰/۱۰ درصد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (جدول شماره ۶).

زمان اعمال تیمارها با توجه به دلیل ذکر شده توسط نانومیورا و بنسون [۳]، در اوج شدت تابش نور یعنی در ساعات میانی روز به دلیل جذب حداکثر الکل‌ها و روزهای بدون وزش باد بوده است. خروجی نازل محلول پاش به گونه‌ای تنظیم شد که محلول به صورت قطرات بسیار ریز خارج شود و از ریزش الکل بر روی سطح خاک جلوگیری شود، در ضمن ارتفاع محلول پاشی ۲۰ سانتی متر از سطح گیاه در نظر گرفته شده است. هر گیاه را ۱۵ روز بعد از آخرین محلول پاشی از خاک خارج کرده و اندام هوایی گیاه را در سایه به مدت یک هفته و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس خشک و مقدار ۱۰۰ گرم از اندام هوایی که شامل سرشاخه‌های دارای برگ و گل می‌باشد به طور دقیق توزین و سپس توسط آسیاب مقداری خرد شد. گیاه خرد شده داخل بالن ۲ لیتری ریخته شد و سپس آب مقطر تا اندازه‌ای اضافه شد که حجم به دو سوم حجم کل بالن برسد. سپس دستگاه کلونجر به بالن متصل شد. دمای هیتر در ابتدا به گونه‌ای تنظیم شد که آب درون بالن به نقطه جوش برسد، سپس درجه هیتر به اندازه‌ای پایین آمد که محتویات درون بالن به واسطه فشار بخار زیاد ایجاد شده به درون کلونجر نفوذ نکند. از لحظه شروع به جوش آمدن آب درون بالن، اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت شروع شد و برای تعیین حجم اسانس از گریولوز به عنوان حلال تعیین‌کننده حجم اسانس استفاده شد. اسانس این گیاه به رنگ زرد روشن بود. به منظور تعیین درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس اقدام به تزریق اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگراف گاز (GC) و



## عملکرد اسانس

بیشتر بودند (جدول شماره ۳). سه ترکیب عمده اسانس شامل نرال، ژرانیل و ژرانیل استات بودند که نرال و ژرانیل از دسته منوترپن‌ها و ژرانیل استات از دسته سزکویی ترین‌ها می‌باشند که از مجموع ترکیبات شناسایی شده در اسانس گیاه ۷۱/۲۱ درصد منوترپن‌ها و ۴/۷۸ درصد سسکویی‌ترین بودند. نتایج حاصل از بررسی طیف‌های GC و GC/MS نشان دادند که کاربرد مقادیر مختلف متانول همراه با سولفات منگنز به روش محلول‌پاشی به اندام هوایی بر درصد ترکیب‌های اسانس بادرنجبویه مؤثر بود. با مصرف متانول ۴۰ درصد ترکیب ژرانیل به میزان ۳۵/۹۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول شماره ۴) و اثر متقابل متانول و سولفات منگنز بر روی درصد ترکیب‌های نرال و ژرانیل استات هر دو در تیمار متانول ۴۰ درصد همراه با سولفات منگنز ۰/۵ گرم بر لیتر ( $m_3S_1$ ) به ترتیب به میزان ۳۲/۷۲ و ۴/۷۸ بیشترین میزان را نسبت به شاهد نشان دادند (جدول شماره ۶).

با توجه به اینکه عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس می‌باشد، بنابراین هرگونه افزایش در این دو مورد می‌تواند منجر به افزایش عملکرد اسانس تولیدی شود. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمایش، اثر متقابل متانول و سولفات منگنز بر عملکرد اسانس، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول شماره ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان تولید اسانس مربوط به تیمار متانول ۴۰ درصد همراه با سولفات منگنز ۰/۵ گرم بر لیتر ( $m_3S_1$ ) بود. این تیمار با میانگین ۲۸/۰۸ گرم در مترمربع هر گیاه نسبت به شاهد به میزان ۰/۷۲ گرم بر مترمربع و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (جدول شماره ۶).

## اجزای اسانس

نتایج این قسمت نشان دادند که مقدار (بر حسب درصد) سه ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس بادرنجبویه از بقیه ترکیب‌ها

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس میانگین مربعات اثر محلول‌پاشی متانول و سولفات منگنز بر گیاه دارویی بادرنجبویه

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد اسانس	عملکرد اسانس	نرال	ژرانیل	ژرانیل استات
متانول	۳	۰/۰۸۸**	۷/۴۵۷*	۶۸۳/۵۱۰**	۹۷۶/۳۷۸**	۱۶۸/۱۷**
سولفات منگنز	۲	۰/۰۰۶**	۵/۳۹۷**	۵۶/۰۳۷**	۵۵/۵۶۹ <sup>NS</sup>	۰/۲۶۵**
متانول*منگنز	۶	۰/۰۰۵**	۲/۵۹۱**	۱۹/۱۴۱**	۲۵/۳۵۵ <sup>NS</sup>	۱/۲۳۳**
تکرار	۲	۰	۰/۰۱۱	۳/۶۸۴	۳۵/۱۹۸	۰/۰۵۲
خطا	۲۲	۰	۰/۱۲۶	۱/۱۲۹	۲۱/۲۳۷	۰/۰۲۵
ضریب تغییرات		۷/۸۷۰۲۳۰۴	۲۱/۶۶۴۷۷۱	۵/۲۰۱۲۶۵	۲۰/۷۶۰۵۹	۷/۱۵۰۱۷۴۶۰۴

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد NS: عدم تأثیر معنی‌دار

جدول شماره ۴- مقایسه میانگین‌های تأثیر سطوح مختلف متانول بر عملکرد کیفی بادرنجبویه

متانول (درصد)	میزان اسانس (درصد)	میزان نرال (درصد)	میزان ژرانیل (درصد)	میزان ژرانیل استات (درصد)	عملکرد اسانس (گرم/مترمربع)
۰	۰/۱۶ <sup>d</sup>	۱۳/۱۳ <sup>c</sup>	۱۲/۲۸ <sup>c</sup>	۰/۷۷ <sup>d</sup>	۳/۶ <sup>c</sup>
۱۰	۰/۲۳ <sup>c</sup>	۱۲/۹۱ <sup>c</sup>	۱۶/۳۶ <sup>c</sup>	۱/۶۰ <sup>c</sup>	۷/۳۸ <sup>b</sup>
۲۰	۰/۳۱ <sup>b</sup>	۲۵/۷۵ <sup>b</sup>	۲۴/۱۷ <sup>b</sup>	۲/۵۳ <sup>b</sup>	۱۰/۲ <sup>ab</sup>
۴۰	۰/۳۹ <sup>a</sup>	۲۹/۸۹ <sup>a</sup>	۳۵/۹۵ <sup>a</sup>	۳/۹۹ <sup>a</sup>	۱۶/۵۶ <sup>a</sup>

حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



جدول شماره ۵ - مقایسه میانگین‌های تأثیر سطوح مختلف سولفات منگنز بر عملکرد کمی و کیفی بادرنجوبیه

سولفات منگنز (گرم در هزار)	میزان اسانس (درصد)	میزان نرال (درصد)	میزان ژرانیل (درصد)	میزان ژرانیل استات (درصد)	عملکرد اسانس (گرم/مترمربع)
۰	۰/۲۵ <sup>b</sup>	۱۸/۴۸ <sup>c</sup>	۱۹/۹۷ <sup>b</sup>	۲/۰۶ <sup>b</sup>	۵/۷ <sup>c</sup>
۰/۵	۰/۲۸ <sup>a</sup>	۲۲/۷۵ <sup>a</sup>	۲۲/۳۳ <sup>ab</sup>	۲/۳۴ <sup>a</sup>	۱۳/۶۸ <sup>a</sup>
۱	۰/۲۹ <sup>a</sup>	۲۰/۰۴ <sup>b</sup>	۲۴/۲۶ <sup>a</sup>	۲/۲۶ <sup>a</sup>	۸/۸۸ <sup>b</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

جدول شماره ۶ - مقایسه میانگین‌های تأثیر متانول و سولفات منگنز بر عملکرد کمی و کیفی بادرنجوبیه

متانول (درصد)	سولفات منگنز (گرم در هزار)	میزان اسانس (درصد)	میزان نرال (درصد)	میزان ژرانیل (درصد)	میزان ژرانیل استات (درصد)	عملکرد اسانس (گرم/مترمربع)
۰	۰	۰/۱۰ <sup>i</sup>	۹/۰۱ <sup>g</sup>	۱۰/۲۴ <sup>e</sup>	۰/۲۹ <sup>k</sup>	۰/۷۲ <sup>g</sup>
۰	۰/۵	۰/۱۷ <sup>hi</sup>	۱۸/۱۰ <sup>d</sup>	۱۰/۳۹ <sup>e</sup>	۰/۶۸ <sup>j</sup>	۲/۶۴ <sup>fg</sup>
۰	۱	۰/۲۱ <sup>gh</sup>	۱۲/۲۷ <sup>f</sup>	۱۶/۲۱ <sup>de</sup>	۱/۳۴ <sup>h</sup>	۱/۳۸ <sup>de</sup>
۱۰	۰	۰/۱۹ <sup>h</sup>	۱۰/۶۷ <sup>fg</sup>	۱۲/۱۳ <sup>e</sup>	۱/۰۳ <sup>i</sup>	۲/۸۸ <sup>fg</sup>
۱۰	۰/۵	۰/۲۴ <sup>fg</sup>	۱۲/۳۰ <sup>f</sup>	۱۶/۹۵ <sup>de</sup>	۱/۷۲ <sup>g</sup>	۹/۳ <sup>d</sup>
۱۰	۱	۰/۲۷ <sup>ef</sup>	۱۵/۷۵ <sup>e</sup>	۱۹/۹۹ <sup>cd</sup>	۲/۰۵ <sup>f</sup>	۱۰/۰۲ <sup>d</sup>
۲۰	۰	۰/۳۳ <sup>bc</sup>	۲۵/۱۲ <sup>c</sup>	۲۱/۴۳ <sup>cd</sup>	۲/۸۸ <sup>d</sup>	۵/۴۶ <sup>ef</sup>
۲۰	۰/۵	۰/۲۹ <sup>de</sup>	۲۷/۸۷ <sup>b</sup>	۲۳/۵۰ <sup>cd</sup>	۲/۲۱ <sup>f</sup>	۱۴/۷ <sup>b</sup>
۲۰	۱	۰/۳۲ <sup>cd</sup>	۲۴/۲۷ <sup>c</sup>	۲۷/۵۷ <sup>bc</sup>	۲/۵۱ <sup>e</sup>	۱۰/۴۴ <sup>cd</sup>
۴۰	۰	۰/۳۷ <sup>b</sup>	۲۹/۱۰ <sup>b</sup>	۳۶/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۰۳ <sup>b</sup>	۱۳/۳۲ <sup>cb</sup>
۴۰	۰/۵	۰/۴۴ <sup>a</sup>	۳۲/۷۲ <sup>a</sup>	۳۸/۴۹ <sup>a</sup>	۴/۷۸ <sup>a</sup>	۲۸/۰۸ <sup>a</sup>
۴۰	۱	۰/۳۶ <sup>b</sup>	۲۷/۸۷ <sup>b</sup>	۳۳/۲۸ <sup>ab</sup>	۳/۱۶ <sup>c</sup>	۷/۷۴ <sup>de</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (FLSD) در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

## بحث

افزایش غلظت CO<sub>2</sub> داخل برگ‌ها می‌باشد. زیرا غلظت CO<sub>2</sub> در داخل برگ‌ها باعث می‌شود که ریبولوز ۱ و ۵ بیز فسفات به جای ترکیب شدن با O<sub>2</sub> با CO<sub>2</sub> واکنش دهد و عمل کربوکسیلاسیون اتفاق افتد. از این روی افزایش بیوماس گیاهان سه کربنه تیمار شده با متانول ناشی از استفاده آنها از متانول به عنوان یک منبع مستقیم کربنی برای بیوسنتز سرین و نیز کاهش هدر رفتن کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد [۲۴، ۹]. از طرف دیگر ممکن است متانول یا یکی از متابولیت‌های وابسته به آن، یک تغییر متابولیکی خاص را به وجود آورد که باعث

آنچه که از نتایج فوق حاصل می‌شود این است که افزایش میزان اثر متانول و سولفات منگنز و اثر متقابل متانول و سولفات منگنز در سطح احتمال یک درصد بر روی درصد اسانس، عملکرد اسانس و همچنین نرال و ژرانیل استات معنی‌دار است، اما تفاوت معنی‌داری در اثر متقابل متانول با سولفات منگنز و همچنین اثر سولفات منگنز بر ژرانیل مشاهده نشد. مهم‌ترین نقش پیشنهاد شده برای عمل متانول در گیاهان سه کربنه، بازداشتن تنفس نوری است که احتمالاً ناشی از



بیشترین پارامترهای رشدی و عملکرد در محلول پاشی برگی گشنیز (*Coriandrum sativum*) با  $ZnSO_4$ ،  $MnSO_4$  مشاهده شد [۳۱]. غلظت عناصر میکرو و فلزات سنگین در خاک، یکی از معیارهای اساسی در تولید ترکیبات دارویی موجود در گیاهان تازه کشت شده است. این مورد، نشان‌دهنده این حقیقت است که، مقدار جذب و ورود آنها متناسب با غلظت بوده و در بیوستز ترکیبات دارویی تأثیر زیادی دارند [۳۲]. گیاهان دارویی برای رشد و تولید مواد مؤثره به مقادیر مناسبی از ریزمغذها نیاز دارند [۲۸، ۲۷]. شناخته‌شده‌ترین نقش منگنز دخالت آن در آزادسازی اکسیژن فتوستزی در کلروپلاست است. به لحاظ نقش کلیدی منگنز در شکستن مولکول آب، حتی کمبود جزئی منگنز روی فتوستز و آزادسازی اکسیژن اثر می‌گذارد. در حالی که تنها در اثر کمبود شدید منگنز، غلظت کلروفیل کاهش می‌یابد [۳۳]. همان‌گونه که در پژوهش‌های پیشین بیش بود و کمبود منگنز سمیت ایجاد می‌کند در پژوهش ما نیز مقدار مناسب سولفات منگنز که بیشترین بازده و عملکرد را داشته، به مقدار ۰/۵ گرم بر لیتر بوده است.

نتیجه گیری کلی: بهترین تیمار این آزمایش که بیشترین بازده را داشت متانول ۴۰ درصد به همراه سولفات منگنز ۰/۵ گرم بر لیتر ( $MnSO_4$ ) بود. که علت این امر همان‌گونه که در بالا گفته شد علاوه بر نقش تغذیه‌ای الکل‌ها به عنوان یک منبع مستقیم و سهل‌الوصول کربنی است. نقش دیگر آن، گیاه بادرنجبویه در مواجهه با غلظت‌های بالای الکل احتمالاً مورد تنش واقع شده و افزایش ماده مؤثره را سبب شده است و منگنز هم همان‌گونه که گفته شده بیش بود آن سمیت ایجاد کرده با از بین بردن ماکرومولکول‌های سلولی و کمبود آن روی فتوستز و آزادسازی اکسیژن اثر گذاشته است.

افزایش بازیافت کربن آزاد شده در تنفس نوری شود. آنزیم کلیدی درگیر در این کار آنزیم گلیسین دکربوکسیلاز است که در میتوکندری وجود دارد [۲۵، ۲۴، ۹]. افزایش فعالیت این آنزیم باعث افزایش بازده تبدیل گلیسین حاصل از تنفس نوری به سرین می‌شود. طی گزارش خسروی و همکاران بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه، بیشترین میزان بیوستز نرال، ژرانیا، ژرانیل‌استات مربوط به محلول پاشی با متانول ۵۰ درصد بوده است. در مجموع از نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که اعمال تیمارهای هیدروالکلی متانول و اتانول بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه توانست باعث افزایش و تغییر در بیوستز اجزای تشکیل‌دهنده اسانس شود [۲۶].

گیاهان دارویی برای رشد و تولید مواد مؤثره به مقادیر مناسبی از ریزمغذی‌ها نیاز دارند [۲۸، ۲۷]. با کاربرد ریزمغذی‌ها به روش محلول‌پاشی می‌توان وضعیت رشد گیاه را در شرایط تنش بهبود بخشید. در نعنای فلفلی کاربرد ریزمغذی‌ها تعداد غدد ترشح‌کننده اسانس و به تبع آن، عملکرد اسانس را افزایش داده است [۲۹]. محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی روی نعنای فلفلی سبب افزایش ماده خشک و عملکرد اسانس می‌شود [۳۰].

در ارتباط با میزان غلظت الکل‌ها و عملکرد کمی و کیفی در گیاه می‌توان این‌گونه نیز بحث نمود که گیاهان، بویژه گیاهان اسانس‌دار در مواجهه با تنش‌های محیطی، یک سری واکنش‌هایی نشان می‌دهند که این واکنش‌ها منجر به سنتز بیشتر متابولیت‌ها در بافت‌های مختلف گیاه می‌شود. در مواجهه با غلظت‌های بالای الکل‌ها، احتمالاً گیاه بادرنجبویه نیز مورد تنش واقع شده و افزایش عملکرد اسانس را نیز می‌توان علاوه بر نقش تغذیه‌ای الکل‌ها به عنوان یک منبع مستقیم و سهل‌الوصول کربنی، به واکنش گیاه در مقابل غلظت‌های بالای الکل‌ها در داخل بافت‌های گیاه نیز نسبت داد. همچنین

## منابع

1. Abdi N, Abdi M and Hassanzadeh SR. Introduce Herb Arak city. *New Findings in Agriculture* 2010; 1: 49 - 37.

2. Omid Beygi R. Production and produce of medicinal plants, Volume II, first edition, sixth



- printing. Mashhad: publisher Astan Quds Razavi. 2011, pp: 56-58.
3. Noor Hussein Niakan SA, Safarzadeh Vishkai MN, Aslani A and Vale sheyda F. Effect of concentration and methanol foliar application time on growth and yield of mungbean. *Journal of Agricultural Res.* 2011; 3: 305 - 295.
  4. Safarzadeh vishekaei MN, Mahalleh yosefi M and Normohammadi G. Effect of Spraying Methanol on Yield of Common Bean and Snap Bean. New Topics First National Conference on Agriculture. 2011, pp: 2-3.
  5. Hanson AD and Roje S. One-carbon metabolism in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 2001; 52: 119 - 37.
  6. Makhdum IM, Nawaz A, Shabab M, Ahmad F, and Illahi F. Physiological response of cotton to methanol foliar application. *Journal of Research (Science), Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan.* 2002; 13: 37 - 43.
  7. Ramberg L, Hancock P, Lindholm M, Meyer T, Ringrose S, Sliva J, van As J, Vanderpost C. Species diversity of the Okavango Delta, Botswana. *Aquatic Sci.* 2006; 68: 310 - 37.
  8. Downie A, Miyazaki A, Bohnert H, John P, Coleman J, Parry M and Haslam R. Expression Profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Phytochem.* 2004; 65: 2305 - 16.
  9. Fall R and Benson AA. Leaf methanol, The simplest natural product from plants. *Trends Plant Sci.* 1996; 1: 296 - 301.
  10. Galbally E and Kirstine W. The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *Atmos Chem.* 2002; 43 (3): 195 - 229.
  11. Jourand P, Giraud E, Bena G et al. *Methylobacterium nodulans* sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-nodule-forming and nitrogenfixing bacteria. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* 2004; 54: 2269 - 73.
  12. Mengle K and Kirkby EA. Principle of plant nutrition (5th edition). Kluwer Academic Publishers, Netherlands: 2001.
  13. Graham RD, Hannam RJ and Uren NC. Manganese in soils and plants. Dordrecht. the Netherland: kluwer Academic publishe. 1988.
  14. Weckx JEJ, Ciljsters HM. Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol. Biochem.* 1997; 35: 405 - 410.
  15. Zargari A. Medicinal Plants. 4th ed. Tehran Unive rsity Press. Iran. 1990, Vol. 4, pp: 28-42.
  16. Rejhan MS. Herbal Medicine (Herbalism) 1984; 5 (3): 599 - 604.
  17. Momeni T and Shahrokhi N, Essential oil and their effect on treatment. 1998.
  18. Dressing H, Riemann D and Insomina H. Valerian Melissa combinations of equal value to benzodiazepine. *Therapiewoche* 1992; 42: 726 - 36.
  19. Azadbakht M. Classification of medicinal plants. 1999, pp: 20-35.
  20. Alimadad M. Study of essential oil components in (*Melissa officinalis* L.). Thesis Chemistry of Tehran University. 1997, pp: 10-12.
  21. Binder G, Abou-Mandour AA and Czygan F. Regeneration of plants and production of volatiles from callus cultures of *Melissa officinalis* L. Volatile components from headspace analysis. Wurzburg, Germany. 1999, pp: 224-332.
  22. Pino JA, Rosado A and Fuentes V. Composition of the essential oil of *Melissa officinalis* L. from Cuba. *Journal of essential oil Res.* 1999; 11 (3): 363 - 64.
  23. Klimek B, Majda T and Patora J. Investigation of essential oil and phenolic compounds of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) cultivated in Poland. VIIth Conference on the Application of Chromatographic Methods in phytochemical and Biomedical Research Lublin, Poland. *Herba Polonica* 1998; 44: 4, 324 - 31.
  24. McGiffen ME and Manthy JA. The role of methanol in promoting plant growth: A current evaluation. *Phytochem.* 1996; 65: 2305 - 16.
  25. Ivlev AA, Bykova NV, Igamberdiev AU Fractionation of carbon (C13/C12) isotopes in





glycine decarboxylase reaction. *FEBS Lett.* 1996; 386: 174 - 76.

**26.** Khosravi E, Mehrafarin A, Naghdibadi H, Hajiabadi R, Khosravi M. The phytochemical response of (*Melissa officinalis* L.) to foliar application of hydro-alcoholic solutions (methanol and ethanol). *J. Herbal Drugs* 2012; 1: 21 – 5.

**27.** Sarmad Nia GH, Koocheki A. Physiological Aspects of Dryland Farming. Jahad Daneshghi of Mashhad. 1992, pp: 10-20.

**28.** Leilah AA, Badawi MA, EL-Moursy SA, Attia AN. Response of soybean plants to foliar application of zinc and different levels of nitrogen. *J. Agric. Sci. (Mansoura Univ., Egypt)*. 1988; 13: 556 - 63.

**29.** Evans WC. Pharmacognosy. 14th ed., chapter 21, John Wiley pub., New York. 1996, p: 110.

**30.** Heidari F, Zehtab Salmasi S, Javanshir A, Aliari H and Dadpoo MR. The effects of

application microelements and plant density on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2008; 24: 1 - 9. (In Persian with English Summary)

**31.** Kalidasu G, Sarada C, Reddy TY. Efficacy of biofertilizers on the performance of rainfed coriander (*Coriandrum sativum*) in vertisols. *Journal of Spices and Aromatic Crops* 2008; 17 (2): 98 - 102.

**32.** Welch RM, Allaway WH, House WA and Kubota J. Geographic distribution of trace element problems. In: J.J. Mortvedt (ed.) *Micronutrients in agriculture* (2nd ed.). Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI. 1991, pp: 31 - 7.

**33.** Romheld V and Marschner H. Function of micronutrients in plants. In J.J. Mortved et al. (ed.). *Micronutrients in Agricultural. Soil Sci. Amer. Inc., Madison. WI.* 1991: 297-328.

