تأثیر کاربرد اتانول و متانول بر برخی ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

وحید اکبرپور [*۱]، جواد طاهری مقدس [۲]، محمدعلی بهمنیار [۳]، محبوبه آشناور [۴]

[*۱] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[۲] دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری

[۳] استاد گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[۴] دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[*] نویسنده مسئول: v_akbarpour@yahoo.com

چکیده

اتانول و متانول از جمله منابع کربنی تأثیرگذار بر سوخت و ساز گیاهان هستند که سبب تنظیم فرآیندهای متابولیکی گیاه و در نهایت افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی خواهند شد. بدین منظور آزمایشی بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار اتانول (صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد) و متانول (صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد) با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شاهد انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از تیمارهای تغذیه‌ای سبب افزایش صفات مورد بررسی نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که بیشترین مقدار ارتفاع گیاه (۴۶/۵۹ سانتی‌متر)، تعداد برگ در بوته (۸۲/۳۳)، عملکرد برگ در بوته (۱۴/۳۰ گرم)، کلروفیل a، b و کلروفیل کل (۳۱/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول مشاهده شد. همچنین بالاترین میزان وزن تر برگ از کاربرد ۳۰ درصد حجمی متانول به‌دست آمد که با تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول از نظر آماری در یک سطح قرار گرفت. بنابراین برای افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بادرنجبویه، استفاده از این تیمارها توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: اتانول، بادرنجبویه، عملکرد فیزیولوژی، متانول.

مقدمه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی معطر و علفی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد. این گیاه در پزشکی سنتی به عنوان ضداسپاسم، ضدنفخ، آرام بخش، خواب‌آور، ملین و تسکین سردردهای ناشی از استرس کاربرد دارد. از نظر ترکیبات شیمیایی در اندام سبز این گیاه موادی مانند اسید اولئیک، سیترال، ژرانیول و رزماریک اسید وجود دارد. از دیگر ترکیبات بادرنجبویه می‌توان لیمونن و فلاونوئیدها را نام برد. امروزه 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). 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، افزایش تولید ماده خشک در واحد سطح است. به دلیل اینکه حدود ۹۰ درصد وزن خشک گیاهان ناشی از آسیمیلاسیون CO_2 توسط فتوسنتز است، بنابراین راه‌هایی که باعث افزایش تثبیت CO_2 در گیاهان زراعی شوند، می‌توانند به عنوان راهکارهایی مناسب جهت افزایش عملکرد آن‌ها مورد توجه قرار گیرند. در سالهای اخیر مطالعات به سمت استفاده از ترکیب جدیدی که در داخل گیاه سنتز می‌شود و در مراحلی از دوره رشد گیاه جهت افزایش غلظت CO_2 و بالا بردن راندمان فتوسنتزی می‌گردد، معطوف شده است، برخی از این ترکیبات، اتانول و متانول می‌باشند. اتانول یا الکل اتیلیک مایعی قابل احتراق و می‌باشد.

IrHC2019

امروزه بیش از ۹۰ درصد اتانول تولیدی در جهان بیواتانول است (تولید آن به روش زیستی و با بهره‌گیری از مواد اولیه با منشاء طبیعی صورت می‌گیرد) (عمارلو، ۱۳۹۲). متانول نیز مایعی شفاف، بی رنگ و بسیار قطبی است. متانول یک ترکیب آلی فرار است که علاوه بر اثر مستقیم بر رشد گیاه، از راه فعالیت باکتری‌های متیلوتروف نیز بر رشد گیاهان تأثیر زیادی می‌گذارد. این باکتری‌ها با دریافت متانول از برگ‌ها، آن را استفاده کرده و هورمون‌هایی مانند اکسین و سیتوکنین تولید و در اختیار گیاه قرار می‌دهند. به‌طورکلی متانول ترکیب تأثیرگذار بر سوخت‌وساز گیاهان است که سبب تنظیم سرعت فرآیندهای سوخت و سازی گیاه، افزایش رشد و افزایش فعالیت نورساختی و کاهش تنفس نوری می‌گردد (Dowine *et al.*, 2004). به همین دلیل مطالعه‌ای جهت بررسی اثر محلول‌پاشی اتانول و متانول بر شاخص‌های رشدی و عملکردی گیاه دارویی بادرنجبویه انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر منابع مختلف کربنی (اتانول و متانول) بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرنجبویه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. در این پژوهش تیمار محلول‌پاشی شامل غلظت‌های مختلف صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد از اتانول و متانول است که در سه مرحله صورت گرفت. صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل ارتفاع گیاه، تعداد برگ در بوته، وزن تر برگ، عملکرد برگ در بوته، کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید می‌باشد. اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۹۶) صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز با استفاده از برنامه SAS ver.9.1 انجام شد. رسم نمودارها، توسط نرم افزار Excel و میانگین تیمارها توسط آزمون LSD مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر اتانول و متانول بر ارتفاع گیاه بادرنجبویه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)، بیشترین ارتفاع گیاه بادرنجبویه مربوط به تیمار ۱۵ درصد حجمی متانول بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد اتانول و همچنین ۳۰ و ۴۵ درصد متانول اختلاف معنی‌داری نداشت. افزایش ارتفاع گیاه می‌تواند به دلیل آسیمیلاسیون بیشتر کربن و رقابت بیشتر گیاهان برای دریافت نور باشد. گزارش شده که 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، ۱۳۹۴). برخی دیگر از گزارش‌ها حاکی از آن است که محلول‌پاشی متانول، با افزایش تولید سیتوکینین موجب افزایش تقسیم سلولی، تحریک رشد و افزایش ارتفاع در گیاهان شده است (Makhdum *et al.*, 2002).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی ترکیبات اتانول و متانول بر برخی پارامترهای مورفو-فیزیولوژیک گیاه بادرنجبویه

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	تعداد برگ در بوته	وزن تر برگ	عملکرد برگ در بوته	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
اتانول	۳	۲۴۹/۹*	۸۰۵*	۱۶۰/۴**	۱۴۴/۱**	۲۰۲/۵**	۸۸/۹**	۵۵۷/۸**	۱/۱۲^{ns}
متانول	۳	۲۸۲/۹*	۱۱۰۴**	۱۲۹/۱**	۱۰۹/۶**	۱۰۴/۹**	۳۶/۱**	۲۴۶/۷**	۳/۷*
خطای آزمایش	۳۰	۷۹/۴۲	۲۲۰/۳	۲۲/۱۶	۱۲/۴	۳/۴۴	۳/۲	۴۴/۹	۰/۸
ضریب تغییرات (٪)	-	۲۰/۹	۲۰/۲	۱۹/۱	۲۵/۶	۱۱/۸	۲۵/۷	۶/۸	۱۷/۳

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

IrHC2019

تعداد برگ در بوته: بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر اتانول و متانول بر تعداد برگ در بوته به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار شد. حداکثر تعداد برگ در بوته بادرنجبویه مربوط به تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول بود که از لحاظ آماری با تیمارهای ۳۰ درصد اتانول و ۱۵ و ۳۰ درصد متانول در یک سطح قرار داشت (جدول ۲). برخی مطالعات نشان داد که با مصرف متانول سرعت رشد گیاه و نیز تعداد برگ در گیاه بادام زمینی به مقدار بیشتری افزایش یافت. متابولیسم متانول منجر به افزایش قندسازی در برگ‌ها می‌شود و این امر سبب افزایش مقدار آماس سلولی بافت و افزایش سرعت آسیمیلاسیون و رشد در گیاهان تیمار شده با آن می‌گردد (Ramirez *et al.*, 2006).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی اتانول و متانول بر برخی پارامترهای مورفو-فیزیولوژیک گیاه بادرنجبویه

تیمارهای آزمایشی		ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد برگ در بوته	وزن تر برگ (گرم)	عملکرد برگ در بوته (گرم)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
اتانول	صفر (آب مقطر)	۳۷/۱۶^{b}	۷۱/۷۵^{ab}	۲۵/۴۸^{ab}	۷/۵۹^{c}	۱۶/۶۴^{b}	۷/۳۸^{b}	۲۴/۰۲^{b}	۲/۵۹^{ab}
	۱۵	۴۶/۹۵^{a}	۸۲/۳۳^{a}	۲۸/۶۲^{a}	۱۴/۳۰^{a}	۲۰/۸۴^{a}	۱۰/۲۱^{a}	۳۱/۰۵^{a}	۳/۰۹^{a}
	۳۰	۴۵/۷۷^{a}	۷۶/۹۱^{a}	۲۴/۴۵^{b}	۶/۷۰^{c}	۱۰/۹۹^{d}	۳/۶۱^{c}	۱۴/۶۰^{d}	۲/۴۰^{ab}
	۴۵	۴۰/۶۲^{ab}	۶۳/۰۸^{b}	۱۹/۷۹^{c}	۱۰/۹۶^{b}	۱۴/۶۵^{c}	۶/۵۰^{b}	۲۱/۱۵^{c}	۲/۵۱^{ab}
متانول	صفر (آب مقطر)	۳۶/۹۵^{b}	۶۳/۶۶^{b}	۴۵/۲۱^{b}	۷/۱۹^{b}	۱۳/۹۰^{b}	۴/۹۹^{c}	۱۸/۹۰^{c}	۲/۶۴^{ab}
	۱۵	۴۷/۷۹^{a}	۸۱/۶۶^{a}	۲۸/۳۴^{a}	۸/۸۲^{b}	۱۴/۹۹^{b}	۶/۳۶^{bc}	۲۱/۳۵^{b}	۲/۵۷^{ab}
	۳۰	۴۵/۳۱^{a}	۸۱/۸۳^{a}	۳۳/۲۶^{a}	۹/۳۲^{b}	۱۴/۰۷^{b}	۷/۲۱^{b}	۲۱/۲۸^{b}	۲/۰۱^{b}
	۴۵	۴۰/۴۵^{ab}	۶۶/۹۱^{b}	۲۲/۰۲^{b}	۱۴/۲۱^{a}	۲۰/۱۶^{a}	۹/۱۳^{a}	۲۹/۲۹^{a}	۳/۳۸^{a}

حروف مشابه در هر ستون از لحاظ آماری بر اساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند

وزن تر برگ: مطابق جدول ۱، اثر اتانول و نیز متانول بر وزن تر برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بالاترین وزن تر برگ بادرنجبویه مربوط به تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول بود (جدول ۲).

عملکرد برگ در بوته: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اتانول و متانول بر عملکرد برگ بادرنجبویه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین عملکرد برگ نیز مربوط به تیمار ۱۵ درصد اتانول است که با تیمار ۴۵ درصد متانول در یک سطح آماری قرار گرفت (جدول ۲). کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل: اثر تیمارهای اتانول و متانول بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به تیمار ۱۵ درصد اتانول بود که با تیمار ۴۵ درصد متانول تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). گزارش شده که تیمارهای متانول باعث افزایش مقدار کلروفیل a و فعالیت مرکز واکنش فتوسیستم دو در برگ می‌شوند (Theodoridou *et al.*, 2002). یکی از دلایل افزایش مقدار کلروفیل در اثر محلول‌پاشی متانول، وجود متابولیسم تک‌کربنه در گیاهان است. ساخت کلروفیل در برگ گیاه به وجود اسید آمینه S–آدنوزیل متیونین وابسته است. این اسیدآمینه در چرخه متابولیسم تک‌کربنه ساخته می‌شود و اسید آمینه متیونین پیش‌ماده ساخت آن است. در این چرخه متانول با تبدیل به اسید فورمیک، با تتراهیدروفولیت ترکیب شده و طی فرآیندی زمینه ساخت متیونین را فراهم می‌کند (Hanson and Roje, 2001). Bagheri و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که محلول‌پاشی ترکیبات کربنی متانولی در چهار غلظت صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد در پنج نوبت بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه اسطوخودوس اعم از کلروفیل a، کلروفیل b، و کلروفیل کل اثر معنی‌داری داشت که بالاترین میانگین این صفات در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد مشاهده گردید.

IrHC2019

کاروتنوئید: بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر اتانول و متانول بر میزان کاروتنوئید برگ به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کاروتنوئید برگ نشان داد که حداکثر میزان کاروتنوئید برگ مربوط به متانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی بود که با تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول در یک سطح آماری قرار داشت (جدول ۲). کاروتنوئیدها دسته‌ای از رنگدانه‌ها هستند که در جذب نور در گیاهان نقش مهمی دارند و می‌توانند اعمال فیزیولوژیکی متفاوتی را در گیاه انجام دهند. کاروتنوئیدها همچنین ترکیبات ضروری در تشکیلات فتوسنتزی می‌باشند و نقش اساسی آنها حفاظت گیاه در برابر آسیب‌های فتواکسیداتیو می‌باشد. از دیگر وظایف کاروتنوئیدها در گیاهان جذب نور در مرکز برداشت نور فتوسیستم‌هاست (مالک احمدی و همکاران، ۱۳۸۴).

منابع

عمارلو، ا. ۱۳۹۲. بررسی اثر اسید سیتریک، اتانول و متانول بر روی برخی از صفات گیاه گوجه فرنگی رقم سوپرآ. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۶۹ صفحه.

مالک احمدی، ف.، منوچهری کلانتری، م. و ترک‌زاده، م. ۱۳۸۴. اثر غرقاب بر القای تنش اکسیداتیو و غلظت عناصر معدنی در گیاه فلفل (*Capsicum annum*). مجله بیولوژی، ۱۸(۲): ۱۱۹-۱۱۰.

نادعلی، ا.، یارنیا، م.، پاک‌نژاد، ف. و فرحوش، ف. ۱۳۹۴. بررسی برخی صفات کمی و کیفی چغندرقند در پاسخ به محلول‌پاشی متانول و تنش خشکی. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۸(۲): ۱۷۸-۱۶۹.

Bagheri, H., Moghaddam, A. and Afshar, H. 2014. The effect of foliar application of methanol on growth and secondary metabolites in Lavender. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 8: 150-162.

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.

Hanson, A.D. and Roje, S. 2001. One-carbon metabolism in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 52(1): 119-137.

Joshi, K., Chavan, P., Dnyaneshwar, W. and Bhushan, P. 2004. Molecular markers in herbal drugs technology. Current Science, 87: 816-165.

Lichtenthaler, H.K. 1996. Vegetation Stress: an introduction to the stress concept in plants. Journal of Plant Physiology, 148(1): 4-14.

Makhdum, M.I., Malki, M.N., Din, S.V., Ahmad, F. and Chaudhry, F.I. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. Journal of Research (Science), 13(1): 37-43.

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.

Theodoridou, A., Dornemann, D. and K. Kotzabasis. 2002. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. Biochimica et Biophysica Acta, 1573: 189-198.

IrHC2019

The effect of ethanol and methanol on some morpho-physiological characteristics of *Melissa officinalis* L.

Vahid Akbarpour[1*], Javad Taheri Moghaddas[2], Mohammad Ali Bahmanyar[3], Mahboubeh Ashnavar[4]

[1] Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[2] Graduated M.Sc. of Medicinal Plants, Sana Institute of Higher Education, Sari
[3] Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[4] Ph. D. Student, Department of Horticultural Science Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

Ethanol and methanol are carbon sources affecting the metabolism of plants that regulate metabolic processes, increase growth and increase the production of secondary metabolites in medicinal plants. For this purpose, an experiment was conducted on Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) in a completely randomized design with two treatments of ethanol (0, 15, 30 and 45%) and methanol (0, 15, 30 and 45%) with three replications in the research greenhouse of Shahed University. According to the results, the use of nutritional treatments increased the traits compared to the control. The maximum plant height (46.59 cm), number of leaves per plant (82.33), leaf yield per plant (14.30 gr), chlorophyll a, b and total chlorophyll (31.05 mg/g fresh weight) were observed in 15% ethanol treatment. Also, the highest leaf fresh weight was obtained using 30% methanol, which was to 15% ethanol at a statistical level. Therefore, the use of these treatments is recommended to increase the quantitative and qualitative function of Lemon balm.

***Keywords*:** Ethanol, *Melissa officinalis* L., methanol, physiology function.

IrHC2019