



## The Effect of Different Levels of Carbon Dioxide and Ethanol Spraying on The Growth, and Physiological and Biochemical Characteristics of Basil

E. Darabi Hoseinabad Ghaeni<sup>1</sup>, M. Moghaddam\* and F. Arasteh

(Received: 3 June 2023; Accepted: 31 October 2023)

### Abstract

One of the research requirements in agriculture is to find a new and practical method for sustainable production that brings the highest efficiency and the least harm to humans and the environment. In order to investigate the effect of different levels of carbon dioxide and ethanol foliar spraying on the physiological and biochemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum* cv. Keshkeni luvelou), a factorial pot experiment based on a completely randomized design with three replications was conducted in the research greenhouse of the Department of Horticultural Sciences and Landscape of Ferdowsi University Mashhad in 2018. The factors included ethanol spraying at 4 levels (0, 10, 20, and 30% v/v) and carbon dioxide at 3 levels (380, 700, and 1050  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ). The results showed that the highest relative water content (RWC) of leaf, photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, and leaf protein were observed in the treatment of 20% v/v ethanol foliar application with the application of 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of carbon dioxide, as they increased by 45%, 295%, 684%, 83%, and 328% compared to the control, respectively. Fresh and dry biomasses of shoot parts increased significantly with increasing carbon dioxide concentration and ethanol spraying. Thus, the highest fresh and dry biomasses of shoot parts were obtained in foliar spraying of 30% v/v of ethanol and 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of carbon dioxide which increased by 176% and 76%, respectively, compared to the control. The highest activity of polyphenol oxidase and guaiacol peroxidase, stomatal resistance, and electrolyte leakage were related to spraying 30% v/v of ethanol with an application of 1050  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of carbon dioxide which showed an increase of 2%, 4%, 65%, and 76%, respectively, compared to the control. Overall, the results showed that foliar spraying of 20 and 30% v/v of ethanol along with the application of 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  carbon dioxide had the greatest effect in increasing photosynthesis and finally the fresh and dry biomasses of basil.

**Keyword:** Photosynthesis, Transpiration, Electrolyte leakage, Polyphenol oxidase, Stomatal conductance.

**Background and Objective:** Basil (*Ocimum basilicum* L.) is one of the valuable plants that is widely cultivated in the warm regions of Africa, Asia, and the Mediterranean climate zone. Finding a practical method for sustainable production in agriculture that brings the highest efficiency and the minimum harm to humans and the environment is necessary. One of the effective methods of fertilization in the agricultural

1- Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

---

\* Corresponding author, Email: m.moghadam@um.ac.ir

system is the foliar application of fertilizers and leaf feeding, by which nutrients can be quickly provided to the aerial parts of the plant. Alcohols are passively absorbed by plant cells via simple diffusion through the membrane. In this regard and considering the positive effects of ethanol, this research aims to investigate some physiological and biochemical responses of basil cv. Keshkeni luvellou to carbon dioxide and foliar application of ethanol.

**Methods:** A pot experiment was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications in the research greenhouse of the Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad in 2018. Experimental factors included ethanol foliar application at 4 levels (0, 10, 20, and 30% v/v) and carbon dioxide at 3 levels (380, 700, and 1050  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ). The plants were harvested at the flowering stage to evaluate some physiological and biochemical characteristics including photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, leaf relative water content (RWC), leaf protein, electrolyte leakage, polyphenol oxidase activity, guaiacol peroxidase activity, and stomatal resistance. Minitab17 software was used to analyze the data and the mean comparison was performed based on the Bonferroni test ( $p < 0.05$ ).

**Results:** The results showed that the highest leaf RWC, photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, and leaf protein were observed in the treatment of 20% v/v ethanol foliar application with the application of 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of carbon dioxide. In addition, the highest polyphenol oxidase and guaiacol peroxidase activities, stomatal resistance, and electrolyte leakage were obtained in the treatment of 30% v/v ethanol application with a 1050  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of carbon dioxide. The fresh and dry biomasses of shoot increased significantly with increasing carbon dioxide concentration and ethanol spraying. Thus, the highest fresh and dry biomasses of shoot were obtained in the foliar spraying of 30% v/v ethanol with the use of 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  carbon dioxide.

**Conclusions:** In this study, the results showed that all the studied traits were affected by ethanol foliar spraying and elevated carbon dioxide. Furthermore, the results showed that foliar application of 20 and 30% v/v of ethanol with the application of 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of carbon dioxide had the most effect on the studied characteristics. Besides, the control treatment (without ethanol foliar application and carbon dioxide injection) had the least significant effect on the studied traits. Overall, the results of this research showed that foliar spraying of 20 and 30% v/v of ethanol with the application of 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  carbon dioxide had the greatest effect in increasing photosynthesis rate and the fresh and dry biomass of basil plants.

#### References:

1. Khosravi, M.T., Mehrafarin, A., Naqdi Badi, H.A., Haji Aghaei, R., Khosravi, A., 2011. The effect of methanol and ethanol on the performance of *Echinacea purpurea* in Karaj. J. Med. Plant Res. 2(2), 128–121.

## تأثیر سطوح مختلف دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول بر رشد و برخی ویژگی های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان

عزت دارابی حسین آباد قاینی<sup>۱</sup>، محمد مقدم\* و فائزه آراسته

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۹)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول بر فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان رقم کشکنی لولو (*Ocimum basilicum* cv. Keshkeni luvelou) آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل محلول پاشی اتانول در ۴ سطح (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) و دی اکسید کربن در ۳ سطح (۳۸۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میکرومول بر مول) بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ، فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه ای و پروتئین برگ در تیمار محلول پاشی ۲۰ درصد حجمی اتانول همراه با کاربرد ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن بود که به ترتیب ۴۵، ۲۹۵، ۶۸۴، ۸۳ و ۳۲۸ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد داشت. جرم زیست توده تازه و خشک شاخساره با افزایش غلظت دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول افزایش معنی داری پیدا کردند. به طوری که بیشترین مقدار آن ها در محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول همراه با کاربرد ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن به دست آمد که به ترتیب ۱۷۶ و ۷۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت. بیشترین فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز، گایاکول پراکسیداز و مقاومت روزنه ای و نشت الکترولیت مربوط به محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول همراه با کاربرد ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن بود که به ترتیب ۲، ۴، ۶۵ و ۷۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. در کل نتایج این پژوهش نشان داد محلول پاشی ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی اتانول همراه با کاربرد ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن بیشترین تأثیر را در افزایش فتوسنتز و در نهایت زیست توده تازه و خشک گیاه ریحان داشت.

واژه های کلیدی: فتوسنتز، تعرق، پلی فنل اکسیداز، نشت الکترولیت، هدایت روزنه ای.

### مقدمه

کشت می شود. یکی از روش های مؤثر کوددهی در نظام کشاورزی، محلول پاشی کودها و تغذیه برگ است که توسط آن می توان عناصر غذایی را در اسرع وقت در اختیار شاخساره

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) یکی از گیاهان ارزشمندی است که به طور گسترده در مناطق گرم آفریقا، آسیا و مدیترانه

۱- گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: [m.moghadam@um.ac.ir](mailto:m.moghadam@um.ac.ir)

باعث افزایش عملکرد نعناع‌فللی شد (Nurafkan et al., 2018). براساس نتایج پژوهشی که در سال ۲۰۲۳ انجام شده است، افزایش دی‌اکسید کربن باعث رشد برگ‌های کاهو، افزایش کارایی فتوسنتزی و بهبود کیفیت آن شد (Song et al., 2023). افزایش غلظت دی‌اکسید کربن سبب توسعه اندام‌ها و تأثیر مثبت بر عملکرد و کیفیت بادمجان شد (Kirmak et al., 2001). (Khosravi et al., 2011) گزارش کردند محلول‌پاشی متانول (۵۰-۱۰ درصد حجمی) رشد و عملکرد گیاه بادمجان زمینی را با توجه به کاهش سرعت تنفس نوری افزایش داد و همین‌طور باعث آماس سلول‌ها شد. تشکیل کلروفیل در حضور نور نیازمند هورمون سیتوکینین است. از آنجایی که محلول‌پاشی با الکل‌ها باعث افزایش سیتوکینین گیاه می‌شود، می‌تواند باعث افزایش کلروفیل در گیاه شود (Moghaddam et al., 2014). تاکنون پژوهش‌های زیادی در مورد تأثیر مثبت دی‌اکسید کربن بر رشد و عملکرد محصولات مختلف انجام شده است. اتانول به‌عنوان یک ماده طبیعی در تغذیه کربنی برای افزایش فتوسنتز به ویژه زمانی که محدودیت دی‌اکسید کربن در هوا وجود دارد می‌تواند مطرح باشد. بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر ارزیابی زیست‌توده تازه و خشک شاخساره، و ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ریحان تحت تأثیر برهم‌کنش غلظت-های مختلف دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول و تعیین بهترین غلظت‌ها و سطح سمیت تیمارها بود.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر برهم‌کنش دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول بر زیست‌توده تازه و خشک شاخساره، ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان رقم کشکنی لولو (*Ocimum basilicum* cv. keshkeni luvelou) آزمایشی گلدانی در طول بهار و تابستان سال ۱۳۹۸ در گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (واقع در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و

گیاه قرار داد. الکل‌ها به‌صورت غیرفعال و به‌وسیله انتشار ساده از غشاء سلولی عبور کرده و جذب سلول‌های گیاه می‌شوند (Khosravi et al., 2011). تغذیه از طریق برگ و یا به‌عبارتی محلول‌پاشی یکی از روش‌های رساندن مواد غذایی و عناصر مورد نیاز به گیاهان است که به‌علت سرعت جذب از راه شاخساره می‌توان در کوتاه‌ترین زمان به نتیجه رسید و نیاز غذایی گیاهان را تأمین نمود. چون محلول‌پاشی با الکل‌ها (به ویژه اتانول و متانول) به‌عنوان یکی از راهکارهای مناسب در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان به حساب می‌آید، دارای جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی پایدار و حفظ منابع طبیعی و همین‌طور بقای آن برای نسل‌های آینده است. اتانول یکی از ساده‌ترین فرآورده‌های گیاهی است که توسط بیش‌تر گیاهان به ویژه در طول مراحل اولیه رشد برگ‌ها تحت تأثیر دمتیلاسیون پکتین، تولید می‌شود و با ماهیت یک ترکیب فرار به‌سرعت از طریق روزنه‌های برگ به محیط خارج انتشار می‌یابد (Bradford, 1996). اتانول و متانول به علت دارا بودن مولکول‌های کوچک‌تر از دی‌اکسید کربن به‌سهولت با انتشار ساده بدون صرف انرژی، از غشاء سلول گیاهی عبور کرده و جذب سلول می‌گردد و در نتیجه سبب افزایش ماده خشک گیاه می‌شوند (Asgari and Moeinfard, 2014). پژوهش‌ها ثابت کرده است که اتانول در بافت گیاهی به فرمالدهید و سرانجام به دی‌اکسید کربن تبدیل می‌شود. افزایش غلظت دی‌اکسید کربن داخلی باعث افزایش عملکرد فتوسنتزی گیاه می‌شود (Khosravi, 2011). پژوهش‌ها آثار مستقیم و غیرمستقیم افزایش غلظت دی‌اکسید کربن را بر ذرت (گیاه چهارکربنه) مثبت و مفید ارزیابی نموده و نشان دادند که افزایش غلظت دی‌اکسید کربن موجب افزایش عملکرد ذرت در حدود ۲۲ درصد می‌گردد (Jones et al., 1984). علاوه بر این استفاده از ترکیبات الکلی به‌عنوان یک محرک زیستی عمل کرده و باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Benson and Nonomun, 1994). پژوهش‌های انجام‌شده در این راستا نشان داده است که محلول‌پاشی با اتانول به‌ویژه در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد

انتقال داده شدند. اولین محلول‌پاشی با اتانول در مرحله ۸ برگی و محلول‌پاشی‌های دیگر با فاصله یک هفته از هم و به مدت یک ماه انجام شدند. ارزیابی و اندازه‌گیری صفات در مرحله تمام گل صورت گرفت.

#### زیست‌توده تازه و خشک ریشه و شاخساره

برای تعیین وزن زیست‌توده تازه و خشک برگ، ساقه و ریشه از ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. برای تعیین وزن خشک، بوته‌ها به مدت ۴۸ ساعت درون آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند و سپس وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد.

#### محتوای نسبی آب برگ

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) نمونه‌هایی از برگ کامل تهیه شده و وزن تازه نمونه برگ (FW) آن‌ها اندازه‌گیری شد. این قطعات به منظور تعیین وزن آماس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق، در آب مقطر به حالت غوطه‌ور قرار داده شد و پس از این زمان وزن آماس نمونه (TW) ثبت گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت درون آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس قرار گرفت و وزن خشک (DW) آن‌ها به دست آمد. در نهایت RWC برگ با فرمول زیر محاسبه شد (Sanchez et al., 1998):

$$RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100 \quad (1)$$

#### نشت الکترولیت

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت از روش Li et al. (1995) استفاده شد. برای این منظور نمونه‌های برگ به ابعاد ۲ در ۲ سانتی‌متر با آب بدون یون شسته شده، به شیشه‌های ۵۰ میلی‌لیتری درب‌دار محتوای ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگهداری شدند. سپس میزان رسانایی الکتریکی آن‌ها به عنوان نشت اولیه ( $EC_1$ ) به وسیله دستگاه رسانایی سنج ( $EC$  متر) اندازه‌گیری شد. نشت ثانویه ( $EC_2$ ) نیز با اندازه‌گیری میزان رسانایی الکتریکی نمونه‌ها

ارتفاع ۹۸۵ متری از سطح دریا) در شرایط کنترل‌شده اجرا شد. میانگین دمای روز و شب گلخانه در مدت انجام آزمایش به ترتیب  $26 \pm 3$  و  $22 \pm 3$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۵ درصد بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور و در ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اول دی‌اکسید کربن در سه غلظت (۳۸۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میکرومول بر مول) و فاکتور دوم محلول‌پاشی اتانول در چهار سطح (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی معادل ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب) بود. ابتدا بذره‌های ریحان در سینی‌های کاشت حاوی کوکوپیت کشت شدند. بذر ریحان به منظور جوانه‌زنی به دمایی در حدود ۱۸ تا ۲۰ درجه سلسیوس نیاز دارد. سپس نشاء‌ها در مرحله چهار برگی به گلدان‌های هم‌اندازه با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر انتقال داده شدند. در هر گلدان ۴ نشاء ریحان کاشته شد. ترکیب خاک گلدان‌ها شامل خاک باغچه، خاک برگ، ماسه به نسبت حجمی ۱:۱:۱ بود. بافت خاک لوم شنی (رس ۸/۵ درصد، سیلت ۱۹/۳ درصد، شن ۷۲/۱ درصد)، ماده آلی خاک ۱/۴ درصد، رسانایی الکتریکی آن برابر ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر و pH برابر ۷/۷ بود. برای اعمال تیمار دی‌اکسید کربن از دو محفظه استفاده شد که یکی برای غلظت ۷۰۰ میکرومول بر مول و دیگری برای غلظت ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن به کار رفت. محفظه‌ها به طول ۲ متر، عرض ۱/۵ متر و ارتفاع ۲ متر استفاده شد که با پلاستیک کاملاً شفاف (چادرها) پوشانده شده بود و دارای سیستمی کاملاً خودکار برای تنظیم غلظت گاز دی‌اکسید کربن بودند. بدین صورت که یک فتوسل برنامه روشن و خاموش شدن دستگاه را به ترتیب در روز و شب اجرا می‌کرد. تزریق گاز با استفاده از کپسول‌های ۵۰ کیلوگرمی دی‌اکسید کربن و شیرهای برقی و تایمرهایی که در مسیر قرار داده شده بودند، صورت گرفت. با استفاده از یک حسگر دی‌اکسید کربن قابل حمل، اندازه‌گیری غلظت دی‌اکسید کربن در طول روز انجام می‌شد. گیاهان در مرحله ۶ برگی به منظور اعمال سطوح مختلف دی‌اکسید کربن به درون چادرهای مختلف

## مالون دی آلدنید

میزان آسیب به غشاءها با اندازه‌گیری مقدار مالون دی آلدنید (MDA) به‌عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء تعیین شد. به‌منظور اندازه‌گیری MDA میزان ۰/۲۵ گرم از نمونه تازه گیاهی را در نیتروژن مایع پودر کرده، و سپس با ۵۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با  $\text{pH} = 7$  مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر از محلول فوقانی برداشته شد و به آن ۳۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک (TCA) ۲۰ درصد افزوده شد. برای تهیه محلول تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد که حاوی اسید تری‌توبار بیتئوریک (TBA) ۰/۵ درصد بود، ۵ گرم اسید تیوبار بیتئوریک و ۲۰۰ گرم اسید تری‌کلرواستیک را در ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط نموده و یک شب در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داشته و روز بعد با افزودن آب مقطر محلول به حجم ۱ لیتر رسانده شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد و بلافاصله در حمام یخ سرد گذاشته شد. سپس نمونه‌ها مجدداً به مدت ۵ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای محیط سانتریفیوژ گردید. ماده قرمز رنگ مالون دی آلدنید تیوبار بیتئوریک اسید حاصل شده و جذب نوری آن در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. برای تعیین غلظت مالون دی آلدنید از فرمول زیر با ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر استفاده شد (Davy et al., 2005):

$$\text{MDA} = (\text{A532} - \text{A600}/155) \times 1000 \quad (3)$$

که در آن A532 و A600 اعداد قرائت‌شده در طول موج‌های مذکور با دستگاه اسپکتروفتومتر است.

## پروتئین کل

برای سنجش میزان پروتئین کل در گیاه، به لوله‌های آزمایش ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره و سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی افزوده شده و به سرعت هم زده شد. پس از گذشت ۵ دقیقه

پس از گرمادهی درون اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس (به‌منظور کشته‌شدن سلول‌های گیاهی) بررسی شد. در نهایت نشئت ثانویه ( $\text{EC}_2$ ) پس از سردشدن محتویات درون لوله‌های آزمایش تعیین شد. در نهایت شاخص پایداری غشاء (EL) با معادله زیر محاسبه شد (Sajedidi Moghaddam et al., 2012):

$$\text{EL} = (\text{EC}_1/\text{EC}_2) \times 100 \quad (2)$$

## تهیه عصاره متانولی

۵/۰ گرم برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته جدا شده و در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری شد. سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. آنگاه برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، قسمت شفاف و فوقانی عصاره جدا شد (نمونه‌ها از برگ‌های موجود در گره‌های ۴ و ۵ گرفته شدند).

## هدایت و مقاومت روزنه‌ای

اندازه‌گیری میزان هدایت و مقاومت روزنه‌ای برگ با استفاده از دستگاه پرومتر دستی مدل (SC-1 Leaf Prometer) انجام شد. برای این منظور از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته استفاده شد.

## کربوهیدرات محلول

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون (۰/۱۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط شد. مخلوط فوق به مدت ۲۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به‌منظور انجام واکنش قرار گرفت. سپس میزان جذب نور پس از سردشدن نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Sadasivam et al., 1992).

اکسیداسیون گایاکول در طول موج  $470$  نانومتر به مدت  $3$  دقیقه اندازه گیری شد. مقدار تراگایاکول تولید شده با استفاده از ضریب خاموشی  $25/5 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  محاسبه شد (Plewa et al., 1991).

### پلی فنل اکسیداز (PPO)

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از پیروگالل به- عنوان پیش ماده آنزیم استفاده شد. مخلوط واکنش شامل  $2/5$  میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم  $50$  میلی مولار ( $\text{pH}=7$ )،  $200$  میکرو لیتر پیروگالل  $0/02$  مولار و  $100$  میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه ها در طول موج  $420$  نانومتر و پس از سه دقیقه در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل  $6/2 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  استفاده شد (Kar and Mishra, 1976).

### تجزیه و تحلیل داده های آماری

برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار Minitab 17 استفاده شد. مقایسه میانگین داده ها از طریق آزمون Bonferroni در سطح احتمال  $5$  درصد تعیین شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار MS Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### محتوای نسبی آب برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که برهم کنش دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر محتوای نسبی آب (RWC) برگ ریحان معنی دار شد (جدول ۱). بیشترین مقدار RWC برگ ( $92/9$  درصد) در تیمار  $700$  میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول  $20$  درصد حجمی بود مشاهده شد که به لحاظ آماری با تیمارهای عدم محلول پاشی اتانول و دیگر سطوح محلول پاشی اتانول در همین غلظت دی اکسید کربن و عدم محلول پاشی اتانول و تیمار  $1050$  میکرومول بر مول دی اکسید کربن و همچنین محلول پاشی اتانول  $20$  و  $30$  درصد حجمی و تیمار

جذب آن در طول موج  $595$  نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نهایت غلظت پروتئین با استفاده از منحنی واسنجی آلبومین محاسبه شد (Bradford, 1976).

### چگونگی تهیه معرف بیوره

$0/1$  گرم کوماسی بریلیانت بلو  $250 \text{ G}$  در  $50$  میلی لیتر اتانول  $96$  درصد ریخته شد و با همزن الکتریکی به هم زده تا حل شد و یک ساعت بعد  $100$  میلی لیتر ارتوفسفریک اسید  $85$  درصد به آن قطره قطره افزوده شد و حجم نهایی محلول با استفاده از آب مقطر استریل شده به حجم  $1000$  میلی لیتر رسانده شد. این محلول از کاغذ صافی وات من شماره ۱ عبور داده شد. محلول حاضر در دمای  $4$  درجه سلسیوس تا  $24$  ساعت قابل نگهداری است.

### تهیه عصاره پروتئینی

برای سنجش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم های مختلف نیاز است که از نمونه گیاهی عصاره پروتئینی تهیه شود. بدین صورت که  $0/5$  گرم از نمونه تازه گیاهی در  $5$  میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم  $50$  میلی مولار حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA یک میلی مولار سائیده و عصاره- گیری انجام شد (قابل ذکر است که تمامی مراحل فوق در مجاورت یخ انجام شد). سپس عصاره ها به مدت  $20$  دقیقه در دمای  $4$  درجه سلسیوس با  $5000$  دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول شفاف رویی برای سنجش آنزیم ها و پروتئین کل مورد استفاده قرار گرفت (Gapinska et al., 2008).

### گایاکول پراکسیداز (GPX)

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه گیری شد. در این روش  $3$  میلی لیتر مخلوط واکنش شامل  $2/77$  میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم  $50$  میلی مولار ( $\text{pH}=7$ )،  $100$  میکرو لیتر آب اکسیژنه یک درصد،  $100$  میکرو لیتر گایاکول  $2$  درصد و  $30$  میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات رشدی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان رقم کشکی لولو تحت تاثیر تیمارهای دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول

**Table 1.** Variance analysis of growth, physiological and biochemical traits in basil cultivar of Keshkeni luvellou as affected by carbon dioxide and ethanol spraying treatments

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی Degree of freedom	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	نسبت الکترولیت Electrolyte leakage	کربوهیدراتهای محلول Soluble carbohydrates	فلاونوئید Flavonoid	زیست توده تازه شاخساره Fresh shoot biomass	زیست توده خشک شاخساره Dry shoot biomass
دی اکسید کربن Carbon dioxide	2	70.38**	18.71**	0.00000075**	0.18**	3236.05**	6.51**
اتانول Ethanol	3	191.47**	4.54**	0.00000061**	0.0062**	297.95**	10.90**
دی اکسید کربن × اتانول Ethanol × Carbon dioxide	6	208.61**	16.49**	0.00000043 <sup>ns</sup>	0.026**	154.54**	3.98**
خطا Error	24	4.5	0.97	0.000000032	0.0005	29.6	0.76

به ترتیب اثر معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و بدون اثر معنی دار  
 \*\*, ns stand for significant effect at the 1% probability level and without significant effect, respectively



۳۸۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن اختلاف معنی داری نداشت. کمترین میزان RWC (۶۳/۹ درصد) در غلظت ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول مشاهده شد (جدول ۲). در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی، شرایط برای رشد گیاه بهبود یافته و RWC افزایش می یابد که نشان دهنده شرایط مطلوب برای گیاه است. اما به نظر می رسد محلول پاشی اتانول در ۳۰ درصد حجمی و تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن شرایط تنشی را برای گیاه ایجاد می کند که منجر به کاهش RWC در ریحان شد. محتوای نسبی آب برگ نشان دهنده میزان آب موجود در اندام های گیاه یا بیان کننده شادابی آن بوده و توان یک گیاه در حفظ آب تحت شرایط تنش را مشخص می نماید. بنابراین در شرایط کنترل شده و یکسان در یک آزمایش، مقدار اندازه گیری شده این صفت بیان گر پاسخ یک گیاه بوده و هر چه این مقدار بیش تر باشد توانایی حفظ آب در گیاه بیش تر می شود. افزایش غلظت دی اکسید کربن موجب بسته شدن جزئی روزنه ها می شود. کاهش هدایت روزنه ای باعث کاهش تعرق در واحد سطح برگ می شود. کاهش در سرعت از دست دادن آب برگ می تواند به دلیل کاهش تعرق و کاهش نیاز آبی در شرایط افزایش غلظت دی اکسید کربن باشد و در نتیجه افزایش محتوای نسبی آب برگ می شود (Heins, 1980; Abbaszadeh et al., 2008; Monajem, 2011).

### نشت الکترولیت

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر برهم کنش دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول در سطح احتمال ۱ درصد بر نشت الکترولیت برگ ریحان معنی دار شد (جدول ۱). بیش ترین نشت الکترولیت آب برگ (۱۶/۰۵ درصد) در تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول و کمترین میزان آن (۹/۰۹ درصد) در تیمار شاهد عدم کاربرد دی اکسید کربن (غلظت ۳۸۰ میکرومول بر

مول) و عدم محلول پاشی اتانول مشاهده شد که به لحاظ آماری با محلول پاشی دیگر سطوح اتانول در همین غلظت دی اکسید کربن و همچنین محلول پاشی اتانول ۱۰ و ۳۰ درصد حجمی همراه با ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۲). نشت الکترولیت یک شاخص پایداری غشاء است، چون در هنگام تنش گونه های فعال اکسیژن افزایش یافته و باعث پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش پایداری غشاء می شوند و در نتیجه مواد سیتوپلاسمی از آن به بیرون نشت کرده و رسانایی الکتریکی را افزایش می دهد (Manchanda et al., 2008). نشت الکترولیتی شاخصی از میزان مقاومت گیاه بوده که تحت شرایط تنش افزایش می یابد (Kirmakak et al., 2001) و بیان گر میزان خسارت به غشای پلاسمایی است. شرایط تنش منجر به آسیب دیدگی غشاء سلولی و افزایش میزان نشت الکترولیت می گردد (Chaum et al., 2010). غلظت های زیاد دی اکسید کربن در توت فرنگی باعث پارگی سلول و افزایش میزان نشت الکترولیت شد (Roger et al., 2008). در پژوهش حاضر نیز سطوح بالای دی اکسید کربن و اتانول موجب ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش میزان نشت الکترولیت شد که با نتایج Ruger et al. (2008) هم خوانی دارد.

### شدت فتوستنز

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر برهم کنش دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر میزان فتوستنز برگ ریحان معنی دار شد (جدول ۳). بیش ترین شدت فتوستنز (۶/۶۸ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) در غلظت ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی مشاهده شد که به لحاظ آماری با محلول پاشی اتانول ۱۰ درصد حجمی در همین غلظت دی اکسید کربن تفاوت معنی داری نداشت. کمترین شدت فتوستنز (۱/۶۹ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) در غلظت ۳۸۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و عدم محلول پاشی اتانول

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش دی‌اکسید کربن و محلولپاشی اتانول بر ویژگی‌های فیزیولوژیک ریحان رقم کشکنی لولو

Table 2. Mean comparison of interaction effect of carbon dioxide and ethanol spraying on the physiological characteristics of basil cultivar of Keshkeni luvellou							
شاخص‌های خشک	زیست‌توده خشک	زیست‌توده تازه	شاخص‌های تازه	زیست‌توده تازه	شاخص‌های تازه	زیست‌توده تازه	شاخص‌های تازه
Dry shoot biomass	(g/plant)	Fresh shoot biomass	(g/plant)	Flavonoid	Electrolyte leakage	Leaf relative water content	Ethanol
				(mg g <sup>-1</sup> FW)	(%)	(%)	(%v/v)
5.30 <sup>d</sup>	28.21 <sup>e</sup>	0.47 <sup>f</sup>	9.09 <sup>d</sup>	83.8 <sup>c</sup>	0		
6.17 <sup>bd</sup>	35.60 <sup>de</sup>	0.53 <sup>ef</sup>	10.29 <sup>cd</sup>	82.1 <sup>c</sup>	10		
6.70 <sup>c</sup>	37.90 <sup>de</sup>	0.58 <sup>de</sup>	10.24 <sup>cd</sup>	88.3 <sup>ac</sup>	20		380
7.76 <sup>ad</sup>	42.60 <sup>ce</sup>	0.64 <sup>cd</sup>	10.82 <sup>cd</sup>	90.8 <sup>ab</sup>	30		
8.69 <sup>ac</sup>	56.03 <sup>bc</sup>	0.66 <sup>c</sup>	12.05 <sup>ad</sup>	87.1 <sup>ac</sup>	0		
9.16 <sup>a</sup>	63.56 <sup>ab</sup>	0.73 <sup>b</sup>	10.98 <sup>cd</sup>	90.9 <sup>ab</sup>	10		700
9.20 <sup>a</sup>	77.01 <sup>a</sup>	0.92 <sup>a</sup>	12.92 <sup>bc</sup>	92.9 <sup>a</sup>	20		
9.33 <sup>a</sup>	78.00 <sup>a</sup>	0.51 <sup>ef</sup>	11.87 <sup>cd</sup>	91.4 <sup>a</sup>	30		
6.30 <sup>bd</sup>	50.75 <sup>bd</sup>	0.53 <sup>ef</sup>	12.45 <sup>c</sup>	87.8 <sup>ac</sup>	0		
6.56 <sup>cd</sup>	50.98 <sup>bd</sup>	0.54 <sup>ef</sup>	12.41 <sup>c</sup>	84.9 <sup>bc</sup>	10		1050
7.63 <sup>ad</sup>	56.05 <sup>bc</sup>	0.56 <sup>e</sup>	13.23 <sup>ac</sup>	83.8 <sup>c</sup>	20		
8.90 <sup>ab</sup>	66.20 <sup>ab</sup>	0.58 <sup>de</sup>	16.05 <sup>a</sup>	63.9 <sup>d</sup>	30		

در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه تفاوت معنی‌داری براساس آزمون بونفرونی در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.  
In each column, the numbers with at least one similar letter are not significantly different based on the Bonferroni test at the 5% probability level.

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه ریحان رقم کشکی لولو تحت تأثیر تیمارهای دی‌اکسید کربن و محلول پاشی اتانول

Table 3. Variance analysis of physiological and biochemical traits in basil cultivar of Keshki luvellou as affected by carbon dioxide and ethanol spraying treatments									
پروتئین محلول	گایاکول	پلی فنل	اکسیداز	پلی فنل	مالون دی‌آلدئید	مقاومت	هدایت روزنه‌ای	شدت تعرق	تیمار
Soluble protein	Guaiacol peroxidase	Polyphenol oxidase			Malondialdehyde	Stomatal resistance	Stomatal conductance	Transpiration rate	Treatment
Degree of freedom	Photosynthesis rate	Stomatal resistance	Stomatal conductance	Transpiration rate	Photosynthesis rate	Degree of freedom			
0.000001**	0.001631 <sup>ns</sup>	0.00000081**	0.0000006 <sup>ns</sup>	1511.94**	10.99**	4.42**	6.13**	2	دی‌اکسید کربن Carbon dioxide
0.000005*	0.021608 <sup>ns</sup>	0.00000063**	0.000004**	111.26	2.14**	7.71**	3.55**	2	اتانول Ethanol
0.000004*	0.041246**	0.00000075**	0.0000007 <sup>ns</sup>	2206.13**	6.95**	2.7**	9.03**	6	دی‌اکسید کربن × اتانول Ethanol × Carbon dioxide
0.0000007	0.010437	0.0000007	0.000006	23.8	0.24	0.05	0.08	24	خطا Error

\* و \*\*, ns stand for significant effect at the 5 and 1% probability levels and without significant effect, respectively

### فلاونوئید

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر مقدار فلاونوئید برگ ریحان معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان فلاونوئید (۰/۹۲ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی مشاهده شد (جدول ۲). کم‌ترین میزان فلاونوئید (۰/۴۷ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) در تیمار شاهد (عدم کاربرد دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول) دیده شد (جدول ۲). بیش‌ترین شدت فتوستتیز در سطح ۷۰۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی به دست آمد و بیش‌ترین میزان فلاونوئید نیز در این تیمار مشاهده شد که نشان‌دهنده تولید زیاد این متابولیت‌های ثانویه با افزایش فتوستتیز است. دی‌اکسید کربن منبع اصلی کربن در گیاه محسوب شده و به‌طور عمده در سنتز متابولیت‌های اولیه و ثانویه در طی عمل فتوستتیز مصرف می‌شود؛ بنابراین افزایش میزان آن می‌تواند باعث رشد گیاه شود و تولید محصولات فرعی فرایند فتوستتیز نیز در این شرایط افزایش می‌یابد (Mirseyyed Hosseini et al., 2018). فلاونوئیدها دسته بزرگی از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان را تشکیل می‌دهند که توسط جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و یا سازوکارهایی مانند خاموش کردن اکسیژن منفرد از اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کنند (Xu et al., 2015). با ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه، مسیر فنیل‌پروپانوییدها و به‌ویژه مسیر بیوستتیز فلاونوئیدها افزایش می‌یابد (Mackernes et al., 2001). در پژوهش حاضر با افزایش غلظت دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول، سنتز فلاونوئیدها افزایش یافت؛ اما با افزایش بیش از حد آن‌ها و کاهش فتوستتیز مقدار آن‌ها کاهش یافت.

### زیست‌توده تازه و خشک شاخساره

بیش‌ترین زیست‌توده تازه شاخساره (۷۸ گرم در بوته)، مربوط

دیده شد (جدول ۴). پژوهش‌ها نشان داده است اتانول پس از نفوذ به درون بافت گیاه تبدیل به فرمالدئید شده و این ترکیب در نهایت به دی‌اکسید کربن اکسید می‌شود. دی‌اکسید کربن تولیدشده باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن درون برگ شده که این فرایند منجر به افزایش کارایی فتوستتیزی شده (Khosravi, 2011; Mirseyyed Hosseini et al., 2018) احتمالاً منجر به تولید بیش‌تر محصول در گیاه می‌شود (Heins, 1980). محلول‌پاشی برگی الکل‌ها به‌عنوان یک بازدارنده تنفس نوری عمل کرده و با کاهش تنفس نوری موجب می‌شود تا فتوستتیز در گیاه افزایش یافته و در نتیجه پیری برگ به تأخیر افتد و به‌دنبال آن افزایش در ویژگی‌های رشدی گیاه مشاهده شود (Roger et al., 2008). گیاهان تیمارشده با هیدروالکل‌ها می‌توانند فتوستتیز خالص خود و متعاقب آن کارایی تبدیل کربن در گیاه را بهبود بخشند (Benson et al., 1994). افزایش غلظت دی‌اکسید کربن درونی منجر به افزایش کارایی فتوستتیزی می‌شود. بررسی‌های انجام‌شده روی گیاه لوبیا قرمز نشان داد که دو برابر شدن غلظت دی‌اکسید کربن (از ۳۵۰ به ۷۰۰ میکرومول بر مول)، به‌ترتیب باعث افزایش فتوستتیز و عملکرد دانه به‌میزان ۵۰ و ۲۴ درصد می‌گردد، ولی با این حال بر اندازه دانه اثرگذار نیست (Plew et al., 1991). Sajedi Moghaddam et al. (2012) بیان کردند که محلول‌پاشی با الکل‌ها می‌تواند محتوای دی‌اکسید کربن را در گیاه افزایش داده و بدین طریق فعالیت کربوکسیلازی آنزیم رابیسکو را افزایش دهد. در نتیجه فعالیت فتوستتیزی گیاه بهبود یافته و رشد گیاه افزایش می‌یابد. برای بسیاری از گیاهان، افزایش فتوستتیز واکنش بنیادی و اساسی و وابسته به افزایش غلظت دی‌اکسید کربن است که تمام جنبه‌های دیگر مانند رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌طور کلی در گیاهان با افزایش غلظت دی‌اکسید کربن، شدت فتوستتیز، میزان تولید ماده خشک، کارایی مصرف آب و جذب عناصر غذایی افزایش می‌یابد (Li et al., 2020).

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش غلظت دی‌اکسید کربن و محلول پاشی اتانول بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان رقم کشکنی لولو

Table 4. Mean comparison of interaction effect of carbon dioxide and ethanol spraying on physiological and biochemical traits in basil cultivar of Keshkeni luvelou									
وزن تازه (میلی گرم در محلول)	پروتئین محلول	گایاکول پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	مقاومت روزنه‌ای	هدایت روزنه‌ای	شدت تعرق	شدت فتوسنتز	اتانول	دی‌اکسید کربن (میکرومول بر مول)
Soluble protein (mg g <sup>-1</sup> FW)	Guaiacol peroxidase (unit <sup>-1</sup> mg protein)	بر گرم وزن تازه (میلی گرم کوپروستین)	Polyphenol oxidase (unit <sup>-1</sup> mg protein)	بر گرم (میلی گرم کوپروستین)	Stomatal resistance (mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Transpiration rate (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Photosynthesis rate (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Ethanol (%v/v)	Carbon dioxide (ppm)
0.0032 <sup>abc</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.0003317 <sup>e</sup>	0.0003317 <sup>e</sup>	108.70 <sup>f</sup>	6.06 <sup>g</sup>	0.58 <sup>e</sup>	1.69 <sup>i</sup>	0	
0.0027 <sup>bc</sup>	0.02 <sup>b</sup>	0.0004159 <sup>e</sup>	0.0004159 <sup>e</sup>	112.66 <sup>ef</sup>	7.46 <sup>dg</sup>	1.52 <sup>cd</sup>	2.94 <sup>gh</sup>	10	380
0.0013 <sup>de</sup>	0.05 <sup>ab</sup>	0.0004294 <sup>e</sup>	0.0004294 <sup>e</sup>	110.13 <sup>f</sup>	7.56 <sup>cg</sup>	1.54 <sup>cd</sup>	4.82 <sup>cde</sup>	20	
0.0016 <sup>d</sup>	0.06 <sup>ab</sup>	0.0004334 <sup>e</sup>	0.0004334 <sup>e</sup>	111.46 <sup>f</sup>	7.76 <sup>bf</sup>	1.9 <sup>cd</sup>	4.98 <sup>cde</sup>	30	
0.0017 <sup>d</sup>	0.09 <sup>ab</sup>	0.0003804 <sup>e</sup>	0.0003804 <sup>e</sup>	127.41 <sup>de</sup>	8.66 <sup>bc</sup>	2.25 <sup>e</sup>	5.70 <sup>bc</sup>	0	
0.0031 <sup>abc</sup>	0.10 <sup>ab</sup>	0.0003932 <sup>e</sup>	0.0003932 <sup>e</sup>	139.16 <sup>cd</sup>	9.10 <sup>bc</sup>	3.4 <sup>b</sup>	6.38 <sup>ab</sup>	10	700
0.0036 <sup>a</sup>	0.16 <sup>ab</sup>	0.0004788 <sup>e</sup>	0.0004788 <sup>e</sup>	106.00 <sup>f</sup>	11.13 <sup>a</sup>	4.55 <sup>a</sup>	6.68 <sup>a</sup>	20	
0.0029 <sup>abc</sup>	0.22 <sup>ab</sup>	0.0006638 <sup>e</sup>	0.0006638 <sup>e</sup>	135.20 <sup>cd</sup>	9.23 <sup>b</sup>	1.49 <sup>d</sup>	2.82 <sup>h</sup>	30	
0.0030 <sup>abc</sup>	0.10 <sup>ab</sup>	0.0007127 <sup>bc</sup>	0.0007127 <sup>bc</sup>	141.30 <sup>cd</sup>	9.02 <sup>bed</sup>	3.99 <sup>ab</sup>	4.43 <sup>de</sup>	0	
0.00084 <sup>e</sup>	0.13 <sup>ab</sup>	0.0007590 <sup>bc</sup>	0.0007590 <sup>bc</sup>	146.06 <sup>bc</sup>	7.20 <sup>efg</sup>	3.50 <sup>b</sup>	4.22 <sup>ef</sup>	10	1050
0.0025 <sup>c</sup>	0.22 <sup>ab</sup>	0.0010078 <sup>ab</sup>	0.0010078 <sup>ab</sup>	160.13 <sup>ab</sup>	6.58 <sup>fg</sup>	3.25 <sup>b</sup>	3.52 <sup>fg</sup>	20	
0.0035 <sup>ab</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.014216 <sup>a</sup>	0.014216 <sup>a</sup>	175.46 <sup>a</sup>	6.23 <sup>fg</sup>	1.84 <sup>cd</sup>	2.50 <sup>hi</sup>	30	

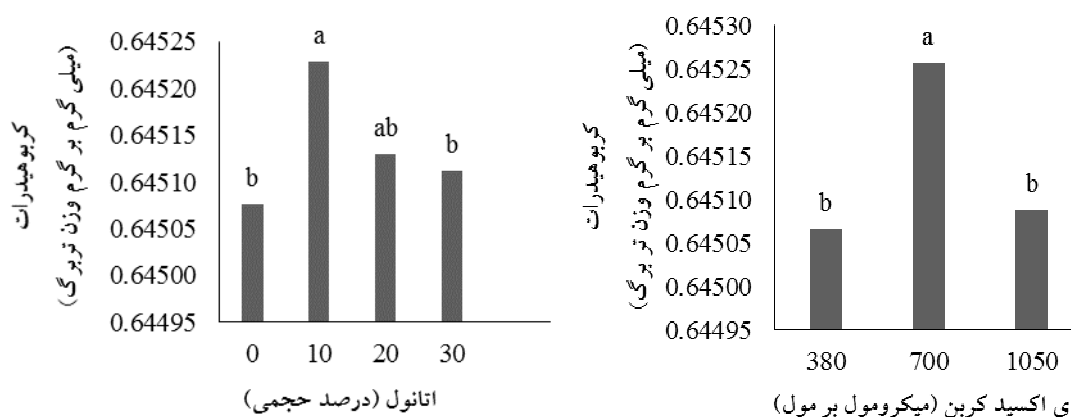
در هر ستون، اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون بونفرونی ندارند.  
In each column, the numbers with at least one similar letter are not significantly different based on the Bonferroni test at the 5% probability level.

ترکیب اتانول و متانول منجر به افزایش زیست توده و در نتیجه عملکرد گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) گردید (Khosravi, 2011) که با نتایج پژوهش حاضر هم راستا است. دی اکسید کربن منبع اصلی کربن در گیاه محسوب شده و به طور عمده در سنتز متابولیت های اولیه در طی عمل فتوسنتز مصرف می شود؛ بنابراین افزایش میزان آن می تواند رشد گیاه را بهبود بخشد (Merati et al., 2015). یکی دیگر از علل احتمالی آن را می توان این گونه بیان کرد که گیاهان با سطح مطلوب دی اکسید کربن به علت کارایی بیش تر مصرف آب و نیتروژن، شرایط رشدی بهتری را خواهند داشت (Xu et al., 2015).

### کربوهیدرات های محلول

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر برهم کنش تیمارها بر کربوهیدرات های محلول برگ ریحان معنی دار نشد، ولی آثار ساده آن ها بر این صفت در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین آثار ساده نشان داد که بیش ترین مقدار کربوهیدرات محلول در غلظت ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و همچنین در محلول پاشی اتانول ۱۰ درصد حجمی به دست آمد (شکل ۱). کربوهیدرات های محلول از جمله گلوکز، فروکتوز و ساکارز و همچنین نشاسته در شرایط تنش در گیاه تجمع می یابند و به عنوان محافظت کننده اسمزی عمل کرده و از طریق تنظیم اسمزی، آماس گیاه را حفظ نموده و موجب پایداری غشاء و پروتئین ها می شوند (Jahantigh et al., 2015). کربوهیدرات های محلول یکی از ترکیباتی هستند که می توانند در مقادیر زیاد بدون صدمه به فعالیت های بیوشیمیایی تجمع یافته و باعث حفظ یکپارچگی غشاء و افزایش مقاومت به تنش شوند (Sanchez et al., 1998). شاید بتوان این گونه بیان کرد که دو تیمار بررسی شده در پژوهش حاضر تاثیر مهارکنندگی برای تولید کربوهیدرات را داشته است. غلظت زیاد دی اکسید کربن (۱۰۵۰ میکرومول بر مول) و همچنین محلول پاشی در غلظت های زیاد اتانول (۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) موجب تولید و افزایش غلظت دی اکسید کربن

به کاربرد دی اکسید کربن در غلظت های ۷۰۰ میکرومول بر مول و محلول پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی بود که با تیمارهای غلظت ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی تفاوت آماری نداشت. بیش ترین زیست توده خشک شاخساره (۹/۳۳ گرم در بوته)، مربوط به کاربرد دی اکسید کربن در غلظت ۷۰۰ میکرومول بر مول و محلول پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی بود که به لحاظ آماری با تیمار بدون محلول پاشی اتانول و محلول پاشی اتانول ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی در همین غلظت دی اکسید کربن و همچنین با غلظت ۳۸۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی در غلظت ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی تفاوت معنی داری نداشت. غلظت های زیاد دی اکسید کربن در محیط و همچنین محلول پاشی اتانول که به فرمالدئید تبدیل شده و در نهایت به دی اکسید کربن اکسید می شود، باعث تجمع دی اکسید کربن در درون بافت گیاهی می شود. بنابراین اشباع شدن شیره سلولی از دی اکسید کربن و عدم مصرف آن باعث اسیدی شدن شیره سلولی (تولید اسید کربنیک) شده که در ادامه موجب تبدیل قندهای محلول به نامحلول می شود. این فرایند منجر به پلاسمولیز سلول های روزنه و بسته شدن روزنه ها شده و در نهایت سبب کاهش فتوسنتز و زیست توده خشک گیاهی می گردد. بنابراین در تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن همراه با محلول پاشی اتانول به دلیل اشباع دی اکسید کربن شدت فتوسنتز کاهش یافته و زیست توده خشک نیز کاهش می یابد. اما کاربرد تنها ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن در شرایط عدم محلول پاشی اتانول، به دلیل مصرف این مقدار دی اکسید کربن در فتوسنتز و عدم اشباع دی اکسید کربن موجب افزایش فتوسنتز شد. (Delusia et al., 1985) در پژوهشی که روی چند گیاه انجام دادند، به این نتیجه رسیدند هنگامی که غلظت دی اکسید کربن به ۱۰۰۰ میکرومول بر مول رسید، توان فتوسنتزی کاهش معنی داری یافت که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد. همچنین در پژوهش دیگری محلول پاشی



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول بر میزان کربوهیدرات محلول ریحان رقم کشکنی لولو؛ مقایسه میانگین بر اساس آزمون بونفرونی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

**Fig. 1.** Mean comparison of the effect of carbon dioxide and ethanol spraying on the amount of soluble carbohydrates in basil cultivar of Keshkeni luvelou; The mean comparison was done based on the Bonferroni test at a probability level of 5%

اتاقک زیر روزنه ایجاد می شود که دلالت بر نقش عوامل روزنه- ای در کاهش فتوستنز در شرایط تنش دارد. نتایج شدت تعرق ریحان نشان داد که رابطه مستقیمی بین این صفت با شدت فتوستنز گیاه وجود دارد. افزایش غلظت دی اکسید کربن تحت آبیاری کامل باعث کاهش شدت تعرق پوشش گیاهی می- گردد، درحالی که هنگامی که گیاه تحت تنش آبی باشد با افزایش غلظت دی اکسید کربن شدت تعرق تغییر معنی داری نداشته و یا در برخی موارد، کمی افزایش خواهد یافت (Burkart, 2004).

#### هدایت روزنه ای

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر برهم کنش دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر میزان هدایت روزنه ای برگ ریحان معنی دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیش ترین میزان هدایت روزنه ای (۱۱/۱۳ مول بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی مشاهده شد (جدول ۴). کم ترین میزان هدایت روزنه ای (۶/۰۶ مول بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار شاهد (۳۸۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و عدم محلول پاشی

در شیره سلولی می گردد. به نظر می رسد به دلیل عدم مصرف در فرآیند فتوستنز، دی اکسید کربن در سلول تجمع یافته که خود باعث اسیدی شدن شیره سلولی می شود. در چنین شرایطی قندهای محلول به نشاسته که کربوهیدرات نامحلول است تبدیل می شوند. شاید دلیل کاهش قندهای محلول در غلظت های زیاد تیمارها به دلیل تبدیل کربوهیدرات های محلول به نامحلول باشد.

#### شدت تعرق

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر برهم کنش دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر شدت تعرق برگ ریحان معنی دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیش ترین شدت تعرق (۴/۵۵ میلی مول بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی مشاهده شد. کم ترین شدت تعرق (۰/۵۸ میلی مول بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار شاهد (۳۸۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و عدم محلول پاشی اتانول) مشاهده شد (جدول ۴). Monajem et al. (2011) گزارش کردند که در نتیجه تنش تغییرات موازی در شدت فتوستنز، شدت تعرق و غلظت دی اکسید کربن در

است که برای سازگاری‌های گیاه به محیط‌های تحت تنش‌زا دارای نقش‌های متفاوتی است. افزایش آبسزیک اسید در بافت برگ گیاه باعث بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش خروج آب از گیاه می‌شود. تنش‌هایی مانند سرما، شوری، گرما و تنش‌های مکانیکی نیز سبب افزایش سنتز آبسزیک اسید در گیاه می‌شود. بنابراین افزایش سنتز آبسزیک اسید در گیاه را می‌توان به دلیل افزایش مقاومت روزنه‌ای دانست (Kafi et al., 2015). در نتیجه در پژوهش حاضر محلول‌پاشی و تزریق دی‌اکسید کربن در سطوح بالا به نوعی تنش بوده و در نتیجه افزایش مقاومت روزنه‌ای در این سطوح مشاهده شد.

### مالون دی‌آلدئید

در جدول تجزیه واریانس، برهم‌کنش تیمارها بر میزان مالون دی‌آلدئید برگ ریحان معنی‌دار نشد، ولی اثر ساده محلول‌پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر آن معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر ساده اتانول نشان داد که اتانول ۳۰ درصد حجمی بیش‌ترین تأثیر را بر میزان مالون دی‌آلدئید برگ ریحان داشت که تفاوت معنی‌داری با سطوح ۲۰ و ۱۰ درصد حجمی آن نداشت (شکل ۲). به نظر می‌رسد اتانول ایجاد تنش در گیاه نموده و افزایش مالون دی‌آلدئید در این حالت به‌خاطر ایجاد تنش است. رادیکال سوپراکسید تولیدی در حین تنش از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای موجود در غشاء میزان مالون دی‌آلدئید در گیاه را نیز افزایش می‌دهند که این یافته مشابه نتایج (Farsaraei, 2020) است. بنابراین می‌توان عنوان کرد که در پژوهش حاضر محلول‌پاشی اتانول موجب تنش در گیاه شد.

### آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (۰/۰۰۱۴ واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم

اتانول) دیده شد که تفاوت معنی‌داری با برخی از تیمارها نداشت (جدول ۴). از آثار اصلی گاز دی‌اکسید کربن بر گیاهان می‌توان به افزایش فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای و تعرق و بهبود کارایی مصرف آب و نور اشاره کرد (Li et al., 2020). متابولیسم متانول، اتانول و تبدیل آن‌ها به قندها در برگ‌های گیاهان تیمار شده با آن‌ها می‌تواند پتانسیل اسمزی برگ‌ها را تغییر داده و باعث افزایش فشار آماس و افزایش هدایت روزنه‌ای آن‌ها شود که این امر باعث افزایش سرعت آسمیلاسیون و همچنین افزایش رشد گیاهان خواهد شد (Manchanda et al., 2008).

### مقاومت روزنه‌ای

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر میزان مقاومت روزنه‌ای برگ ریحان معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان مقاومت روزنه‌ای (۱۷۵/۴۶ مترمربع بر ثانیه بر مول) در تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی مشاهده شد. کم‌ترین مقاومت روزنه‌ای (۱۰۶/۷۰ مترمربع بر ثانیه بر مول) در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۳۸۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و عدم محلول‌پاشی اتانول و محلول‌پاشی اتانول ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی نداشت (جدول ۴). این بدین معنی است که در شرایط تنش، مقاومت روزنه‌ای افزایش پیدا می‌کند که با نتایج پژوهشگران دیگر هم‌خوانی دارد (Jones et al., 1984). افزایش غلظت دی‌اکسید کربن موجب بسته‌شدن جزئی روزنه‌ها می‌شود. این کاهش هدایت روزنه‌ای باعث کاهش تعرق در واحد سطح برگ می‌شود. کاهش در سرعت از دست دادن آب برگ می‌تواند به دلیل کاهش تعرق و کاهش نیاز به آب در شرایط افزایش غلظت دی‌اکسید کربن باشد (Casella et al., 2006). آبسزیک اسید یک هورمون تنشی



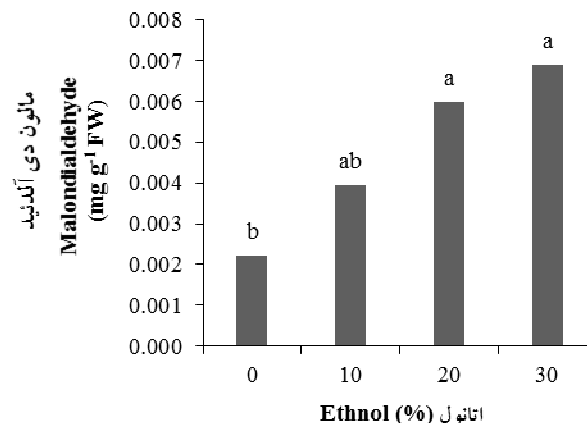
محلول‌پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی تنش به گیاه ریحان وارد شده است.

### گیاکول پراکسیداز

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آثار تیمارها در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم گیاکول پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم گیاکول پراکسیداز (۰/۳۶ واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی اتانول مشاهده شد که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با برخی از سطوح نداشت کم‌ترین فعالیت این آنزیم (۰/۲۰ واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین) نیز در تیمار شاهد (۳۸۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و عدم محلول‌پاشی اتانول) دیده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر سطوح تیمارها نداشت (جدول ۴). (Salarpour et al. (2015 گزارش کردند که در گیاه رازیانه تنش حاصل از کم‌آبایی سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم گیاکول پراکسیداز و آنزیم‌های دیگر نسبت به تیمار شاهد شد. آنچه نتایج پژوهش حاضر نشان داد این است که در اثر محلول‌پاشی اتانول و تغذیه دی‌اکسید کربن در غلظت‌های زیاد، به گیاه ریحان تنش وارد شد که در نتیجه آن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی افزایش یافته است.

### پروتئین محلول

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول در سطح احتمال یک درصد بر میزان پروتئین محلول برگ ریحان معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین مقدار پروتئین محلول (۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی مشاهده شد که به لحاظ آماری با سطوح دیگر اختلاف معنی‌داری نداشت. کم‌ترین



شکل ۲. اثر محلول‌پاشی اتانول بر میزان مالون دی‌آلدئید ریحان رقم کشکنی لولو؛ مقایسه میانگین بر اساس آزمون بونفرونی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

Fig. 2. The simple effect of ethanol spraying on the amount of malondialdehyde in basil cultivar of Keshkeni luvellou; The mean comparison was done based on the Bonferroni test at a probability level of 5%.

پروتئین) در تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و محلول‌پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی مشاهده شد که با تیمار محلول‌پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی در همین غلظت دی‌اکسید کربن تفاوت معنی‌داری نداشت. کم‌ترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (۰/۰۰۳۳ واحد بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد (۳۸۰ میکرومول بر مول دی‌اکسید کربن و عدم محلول‌پاشی اتانول) مشاهده شد (جدول ۴). در گیاه پونه معطر به‌منظور افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی (سوپراکسید دیسموتاز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) افزایش یافت (Manderscheid and Weigel, 2007) که این موارد با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و اغلب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی دیگر رابطه مستقیمی با طول زمان تنش دارد و نشان‌دهنده آن است که با افزایش دوره تنش، فعالیت این آنزیم‌ها نیز تقویت می‌شود (Farsaraei, 2020). این‌طور به‌نظر می‌رسد که در پژوهش حاضر غلظت زیاد دی‌اکسید کربن (۱۰۵۰ میکرومول بر مول) و

مقدار پروتئین محلول (۰/۰۰۰۸۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ) در تیمار ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۱۰ درصد حجمی مشاهده شد (جدول ۴). در آزمایشی که بر روی نیشکر (گیاهی با مسیر فتوسنتزی چهارکربنه) انجام شد مشاهده گردید در گیاهانی که در غلظت دو برابر دی اکسید کربن معمولی هوا رشد می کنند، اثر مثبتی در مراحل نمو ایجاد می شود، از جمله اینکه کلروفیل کل و پروتئین محلول به ترتیب ۳۱ و ۱۵ درصد افزایش می یابد (Wu et al., 2004). افزایش غلظت دی اکسید کربن و اتانول (در بالاترین سطوح آن ها) موجب ایجاد تنش و باعث کاهش پروتئین محلول و افزایش فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز در گیاه ریحان شد. تنش های غیرزنده از جمله تنش شوری سبب می شود تا از سنتز برخی از پروتئین ها جلوگیری شود. در مقابل سنتز برخی دیگر از آن ها افزایش یابد (می توان به آنزیم های پروتئینی اشاره کرد)، ولی در مجموع میزان کل پروتئین محلول در گیاه کاهش می یابد. به منظور تولید اسیدهای آمینه برای تنظیم اسمزی سلول، پروتئین های موجود در گیاه به وسیله آنزیم پروتئاز هیدرولیز شده و همین امر سبب کاهش پروتئین محلول در گیاهانی که در شرایط تنش قرار گرفته اند می شود (Farsaraei, 2020). نتایج پژوهش حاضر در مورد اثر سطوح بالای تیمارها این موضوع را تایید می کند.

### نتیجه گیری کلی

امروزه بهبود عملکرد گیاهان از طریق افزایش فتوسنتز با تزریق دی اکسید کربن و استفاده از محلول پاشی اتانول می تواند به عنوان راهکاری مناسب مورد توجه قرار گیرد. در مورد تأثیر دی اکسید کربن همراه با محلول پاشی اتانول بر عملکرد ریحان پژوهش های زیادی انجام نگرفته است. در این پژوهش، اثر محلول پاشی اتانول و دی اکسید کربن بر زیست توده تازه و خشک شاخساره و برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان در شرایط کنترل شده در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج دلالت بر آن دارد که اثر سطوح مختلف دی اکسید

کربن و محلول پاشی اتانول باعث آثار متفاوتی بر زیست توده تازه و خشک شاخساره، و ویژگی های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه ریحان شد. نتایج ارزیابی تأثیر سطوح مختلف دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی شامل محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کربوهیدرات محلول، فلاونوئید، پروتئین محلول، شدت فتوسنتز، هدایت روزنه ای و شدت تعرق ریحان نشان داد که بیشترین تأثیر معنی داری در بیش تر این صفات در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۲۰ درصد حجمی دیده شد. بیشترین زیست توده تازه و خشک شاخساره در تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی به دست آمد. همچنین بیشترین فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز و مقاومت روزنه ای و نشت الکترولیت در سطوح بالای تیمارها (یعنی غلظت ۱۰۵۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی) مشاهده شد. همچنین بهترین تیمارها از نظر افزایش شدت فتوسنتز و بیشترین زیست توده تازه و خشک شاخساره، محلول پاشی ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی اتانول همراه با کاربرد ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن بودند. بنابراین نتایج این پژوهش نشان داد که بهترین تیمار برای افزایش صفات رشدی در این پژوهش تیمار ۷۰۰ میکرومول بر مول دی اکسید کربن و محلول پاشی اتانول ۳۰ درصد حجمی است.

### تشکر و سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه فردوسی مشهد برای حمایت مالی از این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می نمایند.

### تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچگونه تضاد منافی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

## منابع مورد استفاده

1. Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M.H., Naderi Hajibagher Kandy, M., Moghadami, F., 2008. The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). IJMAPR. 23(4), 504–513. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2008.10090>
2. Asgari, A.A., Moinfard, A., 2014. The effect of foliar application of foliar alcohols as a new method in agriculture. In: The First National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran, November 22<sup>th</sup>, Tehran.
3. Benson, A.A., Nonomura, A.M., 1994. The path of carbon in photosynthesis: methanol inhibition of glycolic acid accumulation. Res. J. Phytochem. 89(20), 9794–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.20.9794>
4. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72(1-2), 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
5. Burkart, S., Manderscheid, R., Weigel, H.J., 2004. Interactive effects of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations and plant available soil water content on canopy evapotranspiration and conductance of spring wheat. Eur. J. Agron. 21, 401–17. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2004.07.003>
6. Casella, E., Soussana, J.F., Loiseau, P., 1996. Long-term effects of CO<sub>2</sub> enrichment and temperature increase on a temperate grass sward. Plant Soil 182, 83–99. <https://doi.org/10.1007/BF00010998>
7. Chaum, S., Takabe, T., Kirdmanee, C., 2010. Ion contents, relative electrolyte leakage, proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of oil palm seedlings in response to salt stress. Pak. J. Bot. 42(3), 2020–2191. <https://doi.org/10.3390/plants10102044>
8. Delucia, E. H., Sasek, T. W., & Strain, B. R., 1985. Photosynthetic inhibition after long-term exposure to elevated levels of atmospheric carbon dioxide. Photosynth. Res. 7, 175–184. [https://doi.org/10.1016/0168-1923\(88\)90078-0](https://doi.org/10.1016/0168-1923(88)90078-0)
9. Davey, M.W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J., Swennen, R.L., 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. Anal. Biochem. 347(2), 201–207. <http://doi.org/10.3844/ajbbsp.2013.235.242>
10. Farsarai, S., 2020. Comparison of The Effect of Three Types of Superabsorbent Polymers on Morphophysiological and Biochemical Properties and The Amount of Basil Essential Oil (Leko cultivar) under Salinity Stress. MSc Thesis, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
11. Gapinska, M., Skłodowska, M., Gabara, B., 2008. Effect of short-and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiol. Plant. 30(1), 11–18. <http://doi.org/10.1007/s11738-007-0072-z>
12. Heins, R., 1980. Inhibition of ethylene synthesis and senescence in carnation by ethanol. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 105(1), 141–144. <http://doi.org/10.1104/pp.71.3.541>
13. Jahantigh, A., Najafi, F., Naqdi Badi, H.A., Khavarinezhad, R.A., Sanjarian, F., 2016. Study of some physiological characteristics of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) in the vegetative stage under the influence of salinity stress. IJPB 8(27), 94–81. <http://doi.org/10.22108/IJPB.2016.20695>
14. Jones, P., Allen, L.H. Jr., Jones, J.W., Boote, K.J., Campbell, W.J., 1984. Soybean canopy growth, photosynthesis and transpiration responses to whole season carbon dioxide enrichment. Agron. J. 76, 633–637. <https://doi.org/10.2480/agrm.469>
15. Kafi, M., Ganjali, A. And Abbasi, F., 2007. Evaluation of changes in abscisic acid (ABA) leaf tissue and stomatal resistance in drought tolerant and susceptible genotypes of chickpea (*Cicer arietinum* L.). J. Sci. IR of Iran 26, 4–19. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw153>
16. Kar, M., Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol. 57(2), 315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
17. Khosravi, E., 2011. Effect of Methanol and Ethanol on Yield and Quality of *Melissa officinalis* L. MSc Thesis. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Karaj, Iran.
18. Khosravi, M. T., Mehrafarin, A., Naqdi Badi, H., A. Haji Aghaei, R. Khosravi, A., 2011. The effect of methanol and ethanol on the performance of *Echinacea purpurea* in Karaj. J. Med. Plant. Res. 2(2), 128–121. <https://doi.org/10.3390/app13116477>
19. Kirmaak, H., Kaya, C., Tas, I., and Higgs, D., 2001. The influence of water deficit on vegetation growth. Physiology fruit yield and quality in eggplants. Bulg. J. Plant Physiol. 27, 34–46. <https://doi.org/10.55257/ethabd.1340314>
20. Lee, Y.H., Sang, W.G., Baek, J.K., Kim, J.H., Shin, P., Seo, M.C., Cho, J., 2020. The effect of concurrent elevation in CO<sub>2</sub> and temperature on the growth, photosynthesis, and yield of potato crops. PLoS One. 15(10), e0241081. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241081>
21. Li, X., Dong, J., Nazim, S., Gruda, Chu, W., Duan, Z., 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. Agron. 10(139), 2–21. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010139>
22. Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J., 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. J. Exp. Bot. 46(12), 1843–1852. <https://doi.org/10.1093/jxb/46.12.1843>

23. Mackerness, S.A.H., John, C.F., Jordan, B., Thomas, B. 2001. Early signaling components in ultraviolet-B responses: distinct role for different reactive oxygen species and nitric oxide. *FEBS Lett.* 489, 237–242.
24. Manderscheid, R., H.J. Weigel., 2007. Drought stress effects on wheat are mitigated by atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *ASD* 27, 79–87. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02103-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02103-2)
25. Manchanda, P., Xie, Y. Youn, N., 2008. The role of targeted communication and contagion in product adoption. *Mark. Sci.* 27(6), 961–976. <https://doi.org/10.1287/mksc.1070.0354>
26. Merati, M.J., Niknam, V., Hassanpour, H. Mir Masoumi, M., 2015. Comparison of the effect of salinity stress on growth and antioxidant responses of different organs of aromatic mint (*Mentha pulegium* L.). *J. Plant Res.* 28 (5), 1107–1097. <https://doi.org/20.1001.1.23832592.1394.28.5.17.0>
27. Mirseyyed Hosseinieh, H., Fathi Gardlidani, A., Mansour Kouhestani, M.R. Bihamta, M., 2018. The effect of carbon dioxide concentration and soil nitrogen availability on growth and physiological indices of wheat. *Iran. J. Soil Water Res.* 49 (4), 779–767. <https://doi.org/10.22059/IJSWR.2017.237231.667716>
28. Moghaddam, M., Alymanesh, M.R., Mehdizadeh, L., Mirzaei, H., Ghasemi Pirbalouti, A., 2014. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Ocimum ciliatum*, as a new source of methyl chavicol, against ten phytopathogens. *Ind. Crops. Prod.* 59, 144–148. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.006>
29. Monajem, S., Ahmadi, A. Mohammadi, V., 2011. Effect of drought stress on photosynthesis, yield and grain yield of rapeseed cultivars. *Iran. J. Field Crops Res.* 13(3), 533–547. <https://doi.org/10.3390/w12082127>
30. Nourafcan, H., Kalantari, Z., and F. Sefidkon., 2018. The effect of methanol and ethanol foliar application on essential oil composition of peppermint. *J. Agroecol.* 14(2), 9–18. <https://doi.org/10.22067/JHS.2022.61778.0> (In Persian with English abstract)
31. Parsad, P.V.V., Boot, K.J., Allen, L.H., Thomas, J.M.G., 2002. Effect of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Glob. Change Biol.* 8, 710–721. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2002.00508.x>
32. Plewa, M.J., Smith, S.R., Wagner, E.D., 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutat. Res-Fund. Mol. M.* 247(1), 57–64. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(91\)90033-k](https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90033-k)
33. Ramirez, I., Dorta, F., Espinozo, V., Jimenez, E., Mercad, A., Penacortes, H., 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco and tomato plants. *J. Plant Growth Regul.* 25(1), 30–44. <https://doi.org/10.1007/s00344-005-0027-9>
34. Roger, F., John Elger, H., Watking, B., Philipia, J., 2008. Physical and mechanical changes in strawberry fruit after high carbon dioxide treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 19, 139–146. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1058173>
35. Sadasivam, S., and Manickam, A., 1992. *Biochemical Methods for Agricultural Sciences*. Wiley Eastern Limited.
36. Sairam, R.K., Rao, K.V., Srivastava, G., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163, 1037–1046. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
37. Sajedi Moghadam, S., Mehrafarin, A., Naqdibadi, H. A. Pazaki, A. R., Qavami, N., 2012. Evaluation of phytochemical performance of thyme plant under hydroalcohol spraying. *J. Med. Plant. Res.* 11(4), 139–130. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60100-0](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60100-0)
38. Salarpur Gharba, F., Farahbakhsh, H., 2015. The effect of dehydration and salicylic acid on essential oils and antioxidant enzymes in fennel. *J. Crop Improv.* 17(3), 727–713. <https://doi.org/10.22108/IJPB.2022.133824.1288>
39. Sanchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Res.* 59(3), 225–235. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00125-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00125-7)
40. Song, H., W, Peiqi., Lu, X., Wang, B., Song, T., Lu, Q., Li, M., Xu., X., 2023. Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal the mechanisms of CO<sub>2</sub> enrichment in promoting the growth and quality in *Lactuca sativa*. *PLoS One* 18 (2), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278159>
41. Vu, J.C.V., Aleen Jr, L.H., Gesch, R.W., 2006. Up-regulation of photosynthesis and sucrose metabolism enzymes in young expanding leaves of sugarcane under elevated grown CO<sub>2</sub>. *Plant Sci.* 171, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.03.003>
42. Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, SE., Prior, RI., 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agric. Food Inf.* 52(12), 4026–4037. <https://doi.org/10.1021/jf049696w>
43. Xu, Z., Jiang, Y., Zhou, G., 2015. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO<sub>2</sub> with environmental stress in plants. *Front. Plant Sci.* 6, 701–715. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00701>