پاسخ فیتوشیمیایی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به کاربرد محرک‌زیستی متانول و نانوکلات آهن

حسنعلی نقدی‌بادی[1]، مجید تولیت ابوالحسنی[1]، مهرداد نظری[2]، علی مهرآفرین[1]*

۱-مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
۲-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گیاهان دارویی ادویه‌ای و نوشابه‌ای، گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
* آدرس مکاتبه: کرج، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، صندوق‌پستی: ۳۱۳۷۵-۱۳۶۹
تلفن: ۱۹-۳۴۷۶۴۰۱۰ (۰۲۶)، نمابر: ۳۴۷۶۴۰۲۱ (۰۲۶)
پست الکترونیک: A.Mehrafarin@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۲۹ **تاریخ تصویب:** ۹۶/۶/۸

چکیده

مقدمه: ریحان (*Ocimum basilicum* L.) متعلق به خانواده نعنائیان است و اسانس آن دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی، اشتهاآور و ضدنفخ است. محلول‌پاشی با متانول به عنوان یک منبع تأمین‌کننده کربن برای گیاهان سه کربنه سبب افزایش عملکرد، تسریع در رسیدگی و کاهش اثر تنش خشکی گیاه می‌شود.

هدف: این تحقیق برای بررسی اثر محلول‌پاشی متانول و نانو کلات آهن بر خصوصیات فیتوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیکی گیاه ریحان اجرا شد.

روش بررسی: در این تحقیق برای تحلیل داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۰ تیمار در ۳ تکرار استفاده شد. تیمارها شامل متانول در پنج سطح (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ درصد حجمی) و نانو کلات آهن در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر) بودند.

نتایج: بر اساس نتایج به دست آمده محلول‌پاشی با ۲۰ درصد حجمی متانول به همراه نانو کلات آهن به میزان ۱ گرم در لیتر به طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) سبب افزایش عملکرد ماده خشک و عملکرد اسانس و همچنین افزایش متیل‌کاویکول و کاریوفیلن گیاه شد. نتایج نشان داد که افزایش درصد محرک‌زیستی متانول فعالیت آنزیم گلوتاتیون پرکسیداز را افزایش و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را کاهش داد ولی افزایش کاربرد نانوکلات آهن سبب افزایش هر دو آنزیم شد.

نتیجه‌گیری: در مجموع این امکان وجود دارد که کاربرد غلظت‌های بالای تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌زیستی متانول و نانو کود کلات آهن بتواند محتوای اسانس و ترکیب متیل‌کاویکول اسانس و نیز برخی از آنزیم‌های مؤثر در کاهش القای تنش‌های محیطی را تا حدی افزایش دهد ولی در مقابل سبب کاهش بیوسنتز دو ترکیب نرال و نریل فرمات شود.

گل‌واژگان: *Ocimum basilicum* L.، گلوتاتیون پرکسیداز، متیل‌کاویکول، محلول‌پاشی متانول، نانوکلات آهن

مقدمه

ریحان *Ocimum basilicum* L. متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) [۲] و گیاهی یکساله با ساقه‌های چهارگوش [۱] که منشأ آن افغانستان، ایران [۳] و هند [۴] گزارش شده است. ریحان در اکثر فارماکوپه‌ها یک گیاه دارویی معرفی شده [۲] و به عنوان اشتهاآور و برای معالجه نفخ شکم و کمک به هضم غذا و معالجه برخی ناراحتی‌های قلبی و بزرگ شدن طحال استفاده می‌شود [۴]. اسانس ریحان خاصیت ضد باکتریایی و قارچی داشته و دفع‌کننده حشرات است [۵] و نیز در صنایع آرایشی و بهداشتی مورد استفاده دارد [۲]. در جنس *Ocimum*، تنوع زیادی از نظر مورفولوژی و تیپ‌های شیمیایی وجود دارد [۶] و شامل بیش از ۳۰ گونه است [۵]. ریحان حاوی مقادیر زیادی ترکیبات فنولیک مانند اسید رزمارینیک (Rosmarinic acid) و اسید کافئیک (Caffeic acid) است [۷] و بذر آن دارای موسیلاژ بوده ودرمان گلو درد استفاده می‌شود [۴]. ترکیب اجزاء و مقدار اسانس آن متأثر از خصوصیات ژنتیکی گیاه و عوامل محیطی است [۸] و با توجه به شرایط اقلیمی بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد متغیر است و ترکیبات اسانس آن نیز متفاوت است، اجزاء مهم آن شامل لینالول (Linalool)، متیل کاویکول (Methyl chavicol)، سیترال (Citral)، اوژنول (Eugenol)، سینئول (Cineol)، ژرانیول (Geraniol)، کامفور (Camphor) و متیل‌سینمات (Methyl cinamate) است [۹].

محلول‌پاشی با متانول به عنوان یک منبع تامین‌کننده کربن برای گیاهان [۱۰] جهت افزایش عملکرد گیاهان سه کربنه استفاده می‌شود، ترکیباتی نظیر متانول، اتانول، پروپانول و بوتانول و نیز اسیدهای آمینه گلیسین و گلوتامات سبب افزایش عملکرد، تسریع در رسیدگی، کاهش اثر تنش خشکی و نیاز آبی گیاه می‌شود [۱۳-۱۰]. گیاهان می‌توانند متانول را به آسانی جذب کرده و آن‌را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند [۱۴]. علت این امر متابولیزه شدن سریع آن به دی‌اکسید کربن در بافت گیاهی است [۱۵].

متانول ساده‌ترین فرآورده گیاهی است که توسط اکثر گیاهان خصوصاً طی مراحل اولیه رشد برگ‌ها در اثر دمتیلاسیون پکتین، تولید و به محیط اطراف انتشار می‌یابد [۱۶]. در هنگام گلدهی تولید متانول در گیاهان با ثبات پکتین در دیواره سلولی همراه است [۱۷]. پکتین متانول تولید شده در برگ را به سایر قسمت‌های گیاه پخش می‌کند که در مرحله جوانی گیاه بیشتر است [۱۸].

محققین اعلام کردند استفاده از محلول متانول با غلظت‌های ۱۰-۵۰ درصد روی گیاهان زراعی C_3 در مناطق گرم و خشک آریزونا سبب افزایش عملکرد ماده خشک و کارایی مصرف آب (WUE) و تسریع وقوع مراحل فنولوژیکی و در نتیجه کمتر شدن نیاز آبی در آنها شد [۱۹]. متانول تولید شده در بافت‌های گیاه ذخیره شده و مقداری از آن ابتدا به فرمالدئید و سپس به اسید فرمیک و اسیدهای آمینه سرین، متیونین و کربوهیدرات‌ها و درنهایت به CO_2 تبدیل می‌شود که در چرخه تثبیت کربن شرکت می‌کند [۲۰].

متانول به عنوان یک منبع مستقیم کربن برای بیوسنتز سرین محسوب می‌شود [۲۱] و همچنین سبب افزایش بازیافت کربن آزاد در تنفس نوری می‌شود [۲۲]. آنزیم‌های موجود در برگ‌های بالغ مانند روبیسکو (در کلروپلاست)، کاتالاز و گلیکولات اکسیداز (در پروکسی‌زوم‌ها) و گلیسین دکربوکسیلاز (در میتوکندری‌ها) بیشترین نقش را در چرخه تنفس نوری در گیاه C_3 و متابولیسم متانول دارند [۲۳]. افزایش فعالیت آنزیم گلیسین دکربوکسیلاز باعث افزایش بازده تبدیل گلیسین حاصل از تنفس نوری به سرین می‌شود [۲۴]. در تحقیقی مصرف متانول روی برگ‌های جوان نخودفرنگی سرعت ساخته شدن اجزاء پروتئینی آنزیم گلیسین دکربوکسیلاز افزایش داد [۲۵]. در ارقام همیشه سبز گونه‌های مختلف گیاهان نسبت به ارقامی که زودتر پیر می‌شوند و یا در ارقامی که به تنش‌های محیطی مقاوم هستند، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر است [۲۷-۲۵]. لذا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول برای محافظت سلول‌های گیاهی در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مهمی بر عهده دارد.

عنصر آهن در واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء به کار رفته و حدود ۸۵ درصد آن در کلروپلاست قرار دارد [۲۸]. آهن در

تعداد زیادی از آنزیم‌ها مثل کاتالاز، پراکسیداز و... نیز به کار رفته است [۲۹]. در فناوری نانو ذرات کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر نسبت سطح به حجم افزایش یافته و خواص شیمیایی مواد افزایش می‌یابد [۳۰] لذا نانو کودها به طور کامل جذب و به خوبی نیازها و کمبودهای غذایی گیاه را رفع می‌کنند [۳۱]. کلات‌ها ترکیبات آلی حاوی عناصر کم مصرف هستند [۲۹].

پیوندی و همکاران [۳۲] به مقایسه تأثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر پارامترهای رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ریحان (*Ocimum basilicum*) پرداختند. نتایج نشان داد که عملکرد گیاهانی که در معرض تیمار کود آهن با غلظت ۷/۵ کیلوگرم در هکتار و نانو کود آهن با غلظت ۱ کیلوگرم در هکتار بودند، نسبت به شاهد افزایش یافته است و به طور کلی جایگزینی کود آهن تهیه شده با فناوری نانو درمقایسه با کودهای آهن رایج در غلظت مناسب یا کمتر نسبت به کود آهن می‌توانند سبب افزایش رشد کمی و کیفی ریحان شود. در آزمایشی دیگر [۳۳] اثر نانو کود کلات آهن و کلات آهن معمولی بر عملکرد و رشد گیاه دارویی مرزه ***Satureja hortensis*** بررسی شد. در این تحقیق فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تیمارمتوسط نانو کود آهن (۴/۵ kgh-1) و غلظت کلروفیل در همه غلظت‌های نانوکود آهن افزایش معنی‌دار نشان داده شد. در آزمایشی تأثیر محلول‌پاشی نانو کود کلات آهن و پتاسیم بر گیاه اسفرزه (*Plantago psyllium* L.) بررسی شد [۳۴]، اثر متقابل ۲ گرم در لیتر نانو کود کلات آهن و ۳ گرم در لیتر نانو کود کلات پتاسیم و همچنین اثر مستقل هر یک بیشترین تأثیر را بر عملکرد وزن خشک هوایی و موسیلاژ داشتند.

در تحقیق حاضر اثر محلول‌پاشی متانول و نانو کود کلات آهن بر افزایش عملکرد زراعی و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفت تا شرایط مناسب برای افزایش توان فتوسنتزی و کاهش هدررفت انرژی‌های متابولیکی گیاه ریحان شناسایی شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی اجرا شد. بذر ریحان (*Ocimum basilicum* L.) مورد استفاده دارای خلوص ۹۷ درصد و قوه نامیه ۸۵ درصد بود. گلدان‌های به نسبت مساوی با خاک باغچه و کود دامی کاملاً پوسیده پر شدند. در هر گلدان ۱۰ عدد بذر کاشته و بعد از تنک کردن ۲ بوته در هر گلدان نگه داشته شد. آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز و بقیه عملیات زراعی طبق روال مرسوم انجام شد.

تیمارهای آزمایش شامل متانول در پنج سطح صفر (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ درصد حجمی و نانو کود کلات آهن در چهار سطح صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر بودند. تیمارها در سه نوبت با فاصله زمانی حدود ۲۰ روز اعمال شدند. محلول‌پاشی اول، سه هفته بعد از کاشت در مرحله دو برگی و محلول‌پاشی‌های دوم در مرحله ۱۰ برگی و آخرین مرحله در زمان گل‌دهی صورت پذیرفت. محلول‌پاشی بوته‌ها در حداکثر شدت تابش نور (درساعات ۱۲ تا ۱۴) به طور یکسان اعمال شد [۳۷- ۳۵]. فاصله محلول‌پاشی از سطح گیاه ۲۰ سانتی‌متر و به صورت مه‌پاش بر روی گیاه انجام شد.

خصوصیات مورد ارزیابی طی سه مرحله اندازه‌گیری شد. سنجش آنزیمی قبل از گلدهی و اندازه‌گیری درصد و اجزای اسانس و خصوصیات مورفولوژیکی در مرحله گل‌دهی و سنجش پارامترهای عملکردی در مرحله بذردهی انجام شد. در این آزمایش از متانول با خلوص ۹۶ درصد (Merck آلمان) و نانوکود کلات‌آهن (Biozar ایران) با اندازه ذرات ۸۳-۴۵ نانومتر استفاده شد. در این آزمایش وزن تر و خشک اندام هوایی، شاخص سبزینگی برگ (با دستگاه SPAD مدل MINLOTA-502)، درصد اسانس و اجزای آن و فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز (PPO) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) سنجیده شد.

جهت استخراج اسانس ابتدا نمونه‌ها را در سایه و هوای آزاد خشک کرده و پس از آسیاب کردن ۵۰ گرم از هر واحد آزمایشی آن را در بالن‌های یک لیتری قرار داده شد و مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر به آن آب اضافه شد و به مدت ۴ ساعت با روش تقطیر توسط دستگاه کلونجر (Clevenger)، اسانس‌گیری شد [۳۸]. و با سولفات سدیم آب‌زدایی شد. برای شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه GC-Mass و دستگاه GC استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما دمای اتاق تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸ در دقیقه استفاده شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilenn 5973 با ولتاژ یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۳۹].

عصاره **آنزیم پلی فنل اکسیداز**(PPO) طبق روش Coseteng and Lee [۴۰] آماده شد. به مدت ۲ دقیقه در بلندر با ۵۰ میلی‌لیتر یخ سرد، ۰/۱ مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=7.2) و محلول همگن ۱ درصدتریتون X-100، در ظروف شیشه‌ای متخلخل به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و سپس سانتریفیوژ (۲°C، ۵۰۰۰ دور) شد. فعالیت این آنزیم در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در ۳ میلی‌لیتر در مخلوطی که از ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم به عنوان بافر و ۰/۳ میلی‌لیتر فسفات و pH=6 و سوبسترا و ۰/۲ میلی‌لیتر آنزیم خام تشکیل شده، انجام می‌شود.

برای سنجش گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) از روش Paglia & Valentine [۴۱] استفاده شد. نوع و میزان مواد لازم شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=7) ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد، ۳ میکرولیتر محلول گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. دستگاه اسپکتروفتومتر روی ۴۷۰ نانومتر تنظیم شد. فعالیت آنزیم به مدت ۵ دقیقه و در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه‌ای ثبت شد. میزان جذب با افزایش زمان روند افزایشی داشت.

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. محاسبات آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل (Excel) انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده (Fisher's protected Least Significant Differences; FLSD) استفاده شد.

نتایج

وزن خشک اندام هوایی: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای متانول بر وزن خشک اندام هوایی از نظر آماری ($P \leq$ ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول شماره ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای متانول ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری با یکدیگر ندارند اما در مجموع بیشترین تأثیر در تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول بر صفت مورد نظر و کمترین تأثیر در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول شماره ۲). اثر نانو کود کلات آهن بر وزن خشک اندام هوایی به لحاظ آماری ($P\leq$۰/۰۵) معنی‌دار بود و بیشترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار یک گرم در لیتر نانو کلات آهن (۰/۲۷ گرم) حاصل شد که با تیمارهای ۰/۵ و ۱/۵ گرم در لیتر نانو کود کلات آهن از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار نانو کودکلات آهن شاهد به دست آمد (جدول شماره ۳).

اثرات متقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر وزن خشک اندام هوایی از نظر آماری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود. مقایسه بین

جدول شماره ۱- تجزیه واریانس سطوح مختلف تیمارهای متانول و آهن بر صفات فیتوشیمیایی گیاه ریحان

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات												
		وزن خشک اندام هوایی	Chlor ophyll	PPO	GPX	Essence	α-pinene	Methyl cahvicol	Neral	Neryl formate	Caryo-phyllene	Linalool	Caryo phyllene oxide	Limonene
بلوک(تکرار)	۲	۵/۳۶	۳/۷۸	۱/۹۲۹	۰/۱۷۴	۰/۷۸	۰/۰۸۵	۱۰۵/۰۳۶	۳۰۴/۰۳۸	۳۵۷/۰۹	۵۲/۷۴	۰/۱۲۶	۰/۵۴	۰/۱۳
متانول	۴	۲۵۴**	۷/۴۸^{ns}	۱۹/۱۶**	۲/۷۵۸**	۱/۴۴**	۰/۰۰۸ns	۲۳/۲۵**	۴۸/۴۷**	۶۳/۲۵۱**	۴/۷۲۲**	۰/۰۰۵*	۱/۹۵**	۰/۰۱۸**
آهن	۳	۵۴/۱۴*	۱۸/۵۵^{ns}	۹/۱۸**	۱/۸۳۱**	۷/۱**	۰/۰۱۱*	۳۹/۲۷**	۵۸/۵۷**	۲۰۷/۷۷**	۸/۵۰۱**	۰/۰۲۷**	۰/۳۵*	۰/۰۵۲**
متانول × آهن	۱۲	۱۷۶/۹**	۳۲/۶۴**	۱۹/۸۳**	۴/۵۷۸**	۱/۸**	۰/۰۳۶**	۳۸۰/۲**	۵۱/۸۰**	۱۰۱/۵۸**	۱۱/۸۰۳**	۰/۰۵۷**	۰/۷۴۳**	۰/۱۵**
خطا	۳۸	۱۵/۷	۸/۱۲	۱/۵۱۷	۰/۳۲۱	۰/۰۷۵	۰/۰۰۴	۲/۹۸	۵/۲۶۵	۳/۴۳	۰/۷۲۳	۰/۰۰۳	۰/۰۸۹	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات		۱۷/۸۸	۱۰/۲	۱۰/۵	۱۱/۱۷	۱۰/۱۹	۱۳/۴۵	۱۰/۳۴	۱۰/۱۹	۱۰/۳۸	۱۹/۳۶	۱۴/۸	۱۷/۷۵	۱۶/۱

*، ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌داری را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف محلول آبی متانول بر صفات فیتوشیمیایی گیاه ریحان

تیمار (متانول)	Limonene (٪)	Caryophy lleneoxide (٪)	Linalool (٪)	Caryo-phyllene (٪)	Neryl formate (٪)	Neral (٪)	Methyl cahvicol (٪)	α-Pinene (٪)	درصد اسانس	GPX (U /min mg Protein)	PPO (µMuol /gFw)	کلروفیل (mg/gFw)	وزن خشک اندام هوایی (g)
شاهد	۰/۴۰^{a}	۱/۲۷^{b}	۰/۳۲^{b}	۵/۰۵^{a}	۳۲/۸۴^{a}	۲۵/۲۲^{a}	۱۴/۸۲^{c}	۰/۵۱^{a}	۲/۴۸^{b}	۴/۵۵^{b}	۱۳/۰۰^{a}	۲۶/۸۰^{a}	۱۹/۵^{b}
۱۰ درصد حجمی	۰/۳۶^{ab}	۱/۳۹^{b}	۰/۳۳^{b}	۵/۰۳^{a}	۳۱/۵۵^{a}	۲۳/۱۰^{b}	۱۶/۱۸^{bc}	۰/۴۹^{ab}	۲/۴۹^{b}	۴/۵۸^{b}	۱۲/۵۳^{a}	۲۷/۳۴^{a}	۲۰/۵^{b}
۲۰ درصد حجمی	۰/۳۴^{bc}	۱/۵۲^{b}	۰/۳۶^{ab}	۴/۲۳^{b}	۳۱/۱۲^{a}	۲۲/۵۹^{b}	۱۶/۴۷^{abc}	۰/۴۶^{b}	۲/۵^{b}	۵/۱۳^{a}	۱۱/۹۸^{a}	۲۷/۷۵^{a}	۲۷/۶^{a}
۳۰ درصد حجمی	۰/۳۲^{cd}	۲/۰۸^{a}	۰/۳۷^{ab}	۳/۸۷^{b}	۳۰/۲۷^{a}	۲۲/۰۱^{b}	۱۷/۴۳^{ab}	۰/۴۶^{b}	۲/۷۵^{b}	۵/۴۴^{a}	۱۰/۷۳^{b}	۲۸/۶۵^{a}	۲۹/۲^{a}
۴۰ درصد حجمی	۰/۲۹^{d}	۲/۱۴^{a}	۰/۳۸^{a}	۳/۷۸^{b}	۲۶/۷۵^{b}	۱۹/۶۴^{c}	۱۸/۵۳^{a}	۰/۴۵^{b}	۳/۲۹^{a}	۵/۵۹^{a}	۹/۹۷^{b}	۲۸/۵۵^{a}	۲۸/۱^{a}

در هر ستون اعدادی که دارای یک حرف مشترک هستند از نظر آزمون دانکن، تفاوت آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.

جدول شماره ۳ – مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف تیمار آهن بر صفات فیتوشیمیایی گیاه ریحان

تیمار (آهن)	Limonene (%)	Caryophyllene Oxide (%)	Linalool (%)	Caryo-phyllene (%)	Neryl formate (%)	Neral (%)	Methyl Cahvicol (%)	α-pinene (%)	درصد اسانس	GPX (U /min mg Protein)	PPO (µMuol /gFw)	کلروفیل (mg/gFw)	وزن خشک اندام هوایی (g)
شاهد	۰/۳۹^{a}	۱/۸۳^{a}	۰/۴۱^{a}	۳/۵۶^{b}	۳۵/۱۱^{a}	۲۴/۳۰^{a}	۱۵/۲۳^{b}	۰/۵۱^{a}	۱/۹^{c}	۴/۷۸^{b}	۱۱/۰۶^{b}	۲۶/۷۴^{b}	۲۲/۸^{b}
۰/۵ گرم بر لیتر	۰/۳۷^{a}	۱/۷۹^{ab}	۰/۳۸^{a}	۳/۸۹^{b}	۳۱/۹۰^{b}	۲۴/۰۷^{a}	۱۵/۵۰^{b}	۰/۴۸^{ab}	۲/۵۴^{b}	۴/۸۶^{b}	۱۱/۱۲^{b}	۲۷/۱۵^{ab}	۲۴/۵^{ab}
۱ گرم بر لیتر	۰/۳۶^{a}	۱/۵۷^{b}	۰/۳۶^{b}	۴/۹۱^{a}	۲۷/۹۸^{c}	۲۱/۳۷^{b}	۱۷/۳۵^{a}	۰/۴۶^{b}	۲/۷۴^{b}	۵/۰۴^{b}	۱۱/۶۳^{b}	۲۸/۱۷^{ab}	۲۷/۴^{a}
۱/۵ گرم بر لیتر	۰/۲۶^{b}	۱/۵۴^{b}	۰/۲۶^{c}	۵/۱۸^{a}	۲۷/۰۳^{c}	۲۰/۳۲^{b}	۱۸/۶۶^{a}	۰/۴۵^{b}	۳/۵۹^{a}	۵/۵۶^{a}	۱۲/۷۵^{a}	۲۹/۲۲^{a}	۲۵/۲^{ab}

در هر ستون اعدادی که دارای یک حرف مشترک هستند از نظر آزمون دانکن، تفاوت آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشد.

میانگین آنها نشان داد که بیشترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار ۲۰ درصد حجمی متانول و یک گرم در لیتر نانوکود کلات آهن به میزان ۰/۳۸ گرم و کمترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار متانول شاهد و یک گرم در لیتر نانوکودکلات آهن مشاهده شد (جدول شماره ۴).

شاخص سبزینگی برگ: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار شاخص سبزینگی برگ از نظر آماری تأثیر معنی‌داری ندارند ولی اثر متقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار شاخص سبزینگی برگ معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول شماره ۱). بیشترین مقدار این شاخص در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و یک گرم در لیتر کلات آهن (۳۴/۶۸) و کمترین آن در تیمار ۲۰ درصد حجمی متانول و یک گرم در لیتر نانو کودکلات آهن (۲۲/۰۷) به دست آمد (جدول شماره ۴).

آنزیم پلی فنل اکسیداز: اثر تیمارهای متانول بر آنزیم پلی-فنل‌اکسیداز به لحاظ آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول شماره ۱). بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در تیمار متانول شاهد و کمترین فعالیت آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول به دست آمد و یک روند کاهشی در فعالیت آنزیم مذکور با افزایش غلظت متانول مشاهده شد و همچنین اثر تیمار نانوکودکلات آهن بر این آنزیم معنی‌داری (P≤ ۰/۰۱) بود و بیشترین فعالیت آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن و کمترین فعالیت در تیمار شاهد حاصل شد (جداول شماره ۲ و ۳). اثر متقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود و بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در تیمار ۲۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم بر لیتر کلات آهن و کمترین فعالیت آن در تیمار ۲۰ درصد حجمی متانول و ۰/۵ گرم در لیتر نانو کود کلات آهن حاصل شد (جدول شماره ۴).

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای متانول و نانوکودکلات آهن بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشتند (جدول شماره ۱). با مقایسه میانگین تیمارها متانول مشخص شد که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بین تیمارهای ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد حجمی متانول تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، اما در مجموع بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار متانول ۴۰ درصد حجمی و کمترین فعالیت آن در تیمار شاهد به دست آمد (جدول شماره ۲). در تیمار کلات آهن بیشترین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در غلظت ۱/۵ گرم در لیتر و کمترین آن در تیمار شاهد حاصل شد (جدول شماره ۳). اثر متقابل متانول و کلات آهن بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون-پراکسیداز معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بود و بیشترین فعالیت آنزیم GPX در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن و کمترین فعالیت آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و کلات آهن شاهد حاصل شد (جدول شماره ۴).

درصد اسانس: تیمارهای متانول بر درصد اسانس ریحان تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشتند (جدول شماره ۱). بیشترین درصد اسانس در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول به میزان ۳/۲۹ درصد و کمترین آن مربوط به تیمارهای متانول شاهد به میزان ۲/۴۸ درصد حاصل شد (جدول شماره ۲).

نانوکودکلات آهن بر درصد اسانس تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشت به طوری‌که بیشترین درصد اسانس در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر نانوکودکلات آهن به میزان ۳/۵۹ درصد و کمترین آن در تیمار نانوکودکلات آهن شاهد به میزان ۱/۹ درصد به دست آمد (جدول شماره ۳). اثر متقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر درصد اسانس از نظر آماری (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بود به طوری‌که بیشترین درصد اسانس در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم در لیتر نانو کودکلات آهن به مقدار ۶ درصد و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و نانوکود کلات آهن شاهد به میزان۱/۶ درصد به دست آمد (جدول شماره ۴).

ترکیبات اسانس

آلفا پینن: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار متانول بر مقدار آلفاپینن از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول شماره ۱). نانوکودکلات آهن بر مقدار آلفاپینن تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۵) داشت. بیشترین مقدار آلفاپینن در تیمار

جدول شماره ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تیمارهای متانول و آهن بر برخی از خصوصیات فیتوشیمیایی و آنزیمی گیاه ریحان

تیمار		Caryo phyllene (٪)	Neryl formate (٪)	Neral (%)	Methyl cahvicol (٪)	Essence (٪)	GPX (U /min mg Protein)	PPO (µMuol /gFw)	کلروفیل (mg/gFw)
متانول (درصد)	آهن (گرم بر لیتر)								
شاهد	شاهد	۴/۸۷^{bcdef}	۴۳/۹۳^{a}	۲۱/۵۵^{cdef}	۱۸/۸۷^{cd}	۲/۰۵^{dc}	۵/۰۱^{bcd}	۱۲/۹۷^{bc}	۲۴/۷۳^{bcd}
	۰/۵	۵/۴۳^{bcde}	۲۸/۶۳^{defg}	۳۰/۶۰^{a}	۱۸/۰۹^{cd}	۳/۰۵^{b}	۴/۲۰^{cd}	۱۳/۱۳^{bc}	۲۹/۱۳^{bc}
	۱	۳/۷۶^{fg}	۲۶/۱۹^{fg}	۲۳/۴۵^{bcdef}	۱۴/۸۹^{def}	۲^{dc}	۵/۰۰^{bcd}	۱۲/۶۶^{bc}	۲۸/۰۶^{bc}
	۱/۵	۶/۱۷^{abc}	۳۲/۶۲^{bcde}	۲۵/۲۸^{bcd}	۷/۴۴^{hi}	۲/۹^{b}	۴/۰۱^{cd}	۱۳/۲۴^{bc}	۲۵/۲۹^{bcd}
۱۰	شاهد	۲/۴۰^{ghi}	۳۱/۴۵$^{b-g}$	۲۵/۸۴^{bc}	۱۲/۱۸^{fg}	۱/۹^{d}	۴/۱۶^{cd}	۱۳/۱۲^{bc}	۲۶/۳۵^{bcd}
	۰/۵	۳/۹۴^{efg}	۳۶/۴۱^{b}	۲۳/۰۳^{bcdef}	۱۹/۴۱^{cd}	۲^{dc}	۳/۹۸^{d}	۱۲/۹۲^{bc}	۲۵/۲۸^{bcd}
	۱	۶/۴۶^{ab}	۲۵/۶۰^{g}	۱۹/۱۲^{f}	۲۵/۷۷^{b}	۳^{b}	۴/۱۳^{cd}	۱۲/۴۲^{bc}	۲۷/۵۰^{bc}
	۱/۵	۷/۳۵^{a}	۳۲/۷۵^{bcde}	۲۴/۴۳^{bcde}	۷/۳۶^{hi}	۳^{b}	۶/۰۶^{b}	۱۱/۶۷^{c}	۳۰/۲۴^{ab}
۲۰	شاهد	۵/۵۳^{bcde}	۳۴/۳۴^{bcd}	۲۲/۹۹^{bcdef}	۱۸/۳۵^{cd}	۲^{dc}	۵/۷۶^{b}	۸/۱۳^{d}	۳۰/۲۶^{ab}
	۰/۵	۱/۵۸^{ij}	۳۲/۶۳^{bcde}	۲۲/۰۳^{cdef}	۹/۷۱^{gh}	۲^{dc}	۴/۴۴^{cd}	۸/۰۵^{d}	۲۸/۴۵^{bc}
	۱	۶/۳۵^{abc}	۲۹/۶۸^{cdefg}	۲۳/۰۵^{bcdef}	۱۶/۷۸^{cde}	۳^{b}	۶/۰۵^{b}	۱۴/۷۶^{b}	۲۲/۰۷^{d}
	۱/۵	۳/۴۷^{fgh}	۲۷/۸۳^{efg}	۲۲/۳۲^{bcdef}	۲۱/۰۶^{c}	۳^{b}	۴/۲۸^{cd}	۱۶/۹۸^{a}	۳۰/۲۲^{ab}
۳۰	شاهد	۴/۷۶^{cdef}	۳۰/۰۵^{cdefg}	۲۴/۴۴^{bcde}	۱۹/۳۶^{cd}	۲^{dc}	۵/۰۱^{bcd}	۱۲/۲۷^{c}	۲۸/۷۲^{bc}
	۰/۵	۴/۴۸^{def}	۲۹/۸۴^{cdefg}	۲۱/۷۳^{cdef}	۲۶/۰۷^{b}	۳^{b}	۵/۶۲^{b}	۱۲/۳۷^{bc}	۲۷/۰۸^{bcd}
	۱	۲/۱۶^{hi}	۳۰/۷۳$^{b-g}$	۲۰/۷۸^{ef}	۱۲/۷۰^{efg}	۳^{b}	۶/۰۶^{b}	۹/۵۷^{d}	۲۸/۵۲^{bc}
	۱/۵	۴/۰۹^{ef}	۳۰/۴۶$^{b-g}$	۲۱/۱۱^{def}	۱۱/۶۱^{fgh}	۳^{b}	۵/۰۹^{bc}	۸/۷۱^{d}	۳۰/۲۸^{ab}
۴۰	شاهد	۰/۲۶^{j}	۳۵/۷۸^{ab}	۲۶/۶۸^{b}	۷/۴۱^{hi}	۱/۶^{d}	۳/۹۶^{d}	۸/۸۰^{d}	۲۳/۶۴^{cd}
	۰/۵	۴/۰۵^{ef}	۳۲^{bcdef}	۲۲/۹۶^{bcdef}	۴/۲۶^{i}	۲/۷^{bc}	۶/۰۸^{b}	۹/۱۶^{d}	۲۵/۸۱^{bcd}
	۱	۵/۸۶^{abcd}	۲۷/۷۳^{efg}	۲۰/۴۷^{ef}	۱۶/۶۲^{cde}	۲/۷^{bc}	۳/۹۷^{d}	۸/۷۶^{d}	۳۴/۶۸^{a}
	۱/۵	۴/۸۲^{bcdef}	۱۱/۵۰^{h}	۸/۴۷^{g}	۴۵/۸۴^{a}	۶^{a}	۸/۳۶^{a}	۱۳/۱۵^{bc}	۳۰/۰۸^{ab}

در هر ستون اعدادی که دارای یک حرف مشترک هستند از نظر آزمون LSD، تفاوت آنها در سطح ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشد

نانوکودکلات آهن شاهد به مقدار ۰/۵۱ درصد و کمترین آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر نانوکودکلات آهن در هزار به مقدار ۰/۴۵ درصد مشاهده شد (جدول شماره ۲). اثر متقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار آلفاپینن از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین مقدار آلفاپینن در تیمار ۱۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن به مقدار ۰/۶۵ درصد و کمترین آن در تیمار متانول ۳۰ درصد حجمی و نانوکودکلات آهن ۱/۵ در هزار به مقدار ۰/۳۲ درصد حاصل شد (جدول شماره ۴).

متیل‌کاویکول: اثر متانول بر مقدار متیل‌کاویکول تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشت (جدول شماره ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار متیل‌کاویکول در غلظت‌های مختلف متانول از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم ندارند اما در مجموع بیشترین مقدار متیل‌کاویکول در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول به مقدار ۱۸/۵۳ درصد و کمترین آن در تیمار متانول شاهد (۱۴/۸۲ درصد) حاصل شد (جدول شماره ۲). اثر نانوکودکلات آهن بر مقدار متیل‌کاویکول معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین مقدار متیل‌کاویکول در تیمار ۱/۵ گرم

در لیتر کلات آهن (۱۸/۶۶ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار نانوکودکلات آهن شاهد (۱۵/۲۳ درصد) حاصل شد (جدول شماره ۳). اثر متقابل تیمار متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار متیل‌کاویکول معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین مقدار متیل‌کاویکول در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۴۵/۸۴ درصد) و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و ۰/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۴/۲۶ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

نرال: بر اساس تجزیه واریانس اثر متانول بر مقدار نرال معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود و بیشترین مقدار نرال در تیمار متانول شاهد (۲۵/۲۲ درصد) و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول (۱۹/۶۴ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۲). اثر نانوکودکلات آهن بر مقدار نرال از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین میزان نرال در تیمار شاهد (۲۴/۳۰ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۲۰/۳۲ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۲). اثر متقابل تیمارهای متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار نرال از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین میزان نرال در تیمار متانول شاهد و ۰/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۳۰/۶۰ درصد) و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۸/۴۷ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

نریل فورمات: اثر متانول بر مقدار نریل‌فورمات از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول شماره ۱). بیشترین نریل‌فورمات در تیمار شاهد (۳۲/۸۴ درصد) و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول (۲۶/۷۵ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۲). اثر مقادیر مختلف نانوکودکلات آهن بر مقدار نریل‌فورمات معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین مقدار نریل‌فورمات در تیمار نانوکودکلات آهن شاهد (۳۵/۱۱ درصد) و کمترین آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۲۷/۰۳ درصد) حاصل شد (جدول شماره ۳).

اثر متقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار نریل-فورمات از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. بیشترین مقدار نریل‌فورمات در تیمار متانول شاهد و نانوکودکلات آهن شاهد (۴۳/۹۳ درصد) و کمترین آن در تیمار متانول ۴۰ درصد حجمی و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۱۱/۵ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

کاریوفیلن: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی متانول بر مقدار کاریوفیلن از نظر آماری (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول شماره ۱) و بیشترین مقدار کاریوفیلن در تیمار شاهد (۵/۰۵ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول (۳/۷۸ درصد) ملاحظه شد (جدول شماره ۲) همچنین اثر نانوکودکلات آهن بر مقدار کاریوفیلن معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بود. بین تیمارهای ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر نانوکودکلات آهن تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، ولی بیشترین مقدار کاریوفیلن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۵/۱۸ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۳/۵۶ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۳). اثرمتقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار کاریوفیلن معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود و بیشترین مقدار کاریوفیلن در تیمار ۱۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۷/۳۵ درصد و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول و نانوکودکلات آهن شاهد (۰/۲۶ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

لینالول: اثر متانول بر مقدار لینالول معنی‌داری (P≤۰/۰۵) بود (جدول شماره ۱). بیشترین مقدار لینالول در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول (۰/۳۸ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۰/۳۲ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۲). اثر کلات آهن بر مقدار لینالول از نظر آماری معنی‌دار (P≤ ۰/۰۱) بود و بیشترین مقدار لینالول در تیمار شاهد (۰/۴۱ درصد) و کمترین آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر به (۰/۲۶ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۳). اثرمتقابل متانول و نانوکودکلات آهن بر میزان لینالول از نظر آماری معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود و بیشترین مقدار لینالول در تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول و ۰/۵ گرم در لیتر نانوکودکلات آهن (۰/۶۲ درصد) و کمترین آن در تیمار متانول شاهد و ۱/۵ گرم در لیتر نانوکود کلات آهن (۰/۱۳ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

کاریوفیلن اکساید: متانول بر مقدار کاریوفیلن‌اکساید اثر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) داشت (جدول شماره ۱). بیشترین مقدار کاریوفیلن‌اکساید در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول

(۲/۱۴ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۱/۲۷ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۲). اثر نانوکودکلات آهن بر مقدار کاریوفیلن‌اکساید از نظر آماری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) بود و بیشترین مقدار کاریوفیلن‌اکساید در تیمار شاهد (۱/۸۳ درصد) و کمترین آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر (به میزان ۱/۵۴ درصد) بود (جدول شماره ۳).

اثر متقابل تیمارهای متانول و نانوکودکلات آهن بر مقدار کاریوفیلن‌اکساید از نظر آماری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود و بیشترین مقدار آن در تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول و ۰/۵ گرم در لیتر نانوکودکلات آهن (۲/۸۰ درصد) و کمترین آن در تیمار متانول شاهد و نانوکودکلات آهن شاهد (۰/۷۹ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

لیمونن: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر متانول بر مقدار لیمونن از نظر آماری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول شماره ۱) و بیشترین مقدار لیمونن در تیمار شاهد (۰/۴ درصد) و کمترین آن در تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول (۰/۲۹ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۲). همچنین اثر نانوکودکلات آهن بر میزان لیمونن تأثیر معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) داشت و بیشترین مقدار لیمونن در تیمار شاهد (۰/۳۹ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر (۰/۲۶ درصد) حاصل شد (جدول شماره ۲). اثر متقابل سطوح مختلف متانول و نانوکودکلات آهن بر لیمونن از نظر آماری معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود و بیشترین مقدار لیمونن در تیمار ۱۰ درصد حجمی متانول و نانوکودکلات آهن یک گرم در لیتر و کمترین آن در تیمار ۱۰ درصد حجمی متانول و کلات آهن شاهد (۰/۰۵ درصد) به دست آمد (جدول شماره ۴).

بحث

در تحقیق حاضر بیشترین وزن ساقه در تیمار متانول ۳۰ درصد حجمی به دست آمد این موضوع می‌تواند بیانگر نیازهای مختلف گیاهان جهت افزایش ماده خشک در آنها نسبت به یکدیگر باشد. در تحقیقی Rowe و همکاران [۴۲] روی گیاه گوجه‌فرنگی مشاهده کردند گیاهانی که با متانول ۱۵ درصد محلول‌پاشی شده‌اند از وزن ساقه بیشتری نسبت به شاهد برخوردارند. در بررسی Rymowicz & Lenart [۴۳] بر روی گیاه آرابیدوپسیس مشاهده شد که با کاربرد ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین بیومأس تولید می‌شود. همچنین ساجدی و همکاران [۴۴] با اعمال ۳۰ درصد حجمی متانول بر روی گیاه آویشن باغی، بیشترین میزان عملکرد برگ را به دست آوردند.

در تحقیقی افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول‌پاشی با متانول گزارش شد [۴۵]. در تحقیق ما نیز محلول‌پاشی سبب افزایش مقدار کلروفیل شد. کاهش کلروفیل و صدمه به انتقال الکترون فتوسنتزی موجب کاهش قندها و کاهش رشد می‌شود [۴۶].

Nonomura نشان داد متانول سبب افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی می‌شود [۱۹]. خسروی و همکاران [۴۷] با مطالعه بر روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، مشاهده کردند که اعمال تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را بر روی محتوای کلروفیل برگ داشت. نتایج به دست آمده در تحقیق ما نیز نشان می‌دهد که اعمال ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را بر محتوای کلروفیل برگ ریحان دارد. افزایش مقدار کلروفیل می تواند با اکسیداسیون متانول در بوته‌های دارای کمبود آب مرتبط باشد. زیرا بوته‌ها در شرایط کمبود آب با تنش اکسیداتیو رو به رو می‌شوند. متانول به راحتی توسط عصاره برگ به فرمالدئید اکسید شده که این توسط آنزیم کاتالاز انجام می‌گیرد و به این ترتیب وارد مسیر تخریبی کلروفیل نمی‌شود [۲۳]. پس می‌توان گفت احتمالاً متانول با افزایش خاصیت ضدتنشی توانسته است گیاه را از صدمات وارده به دستگاه فتوسنتزی حفظ نماید [۴۸].

متابولیسم متانول و تبدیل آن به قندها در برگ‌های گیاهان تیمار شده با متانول می‌تواند پتانسیل اسمزی برگ‌ها را تغییر داده و باعث افزایش فشار تورگر و افزایش هدایت روزنه‌ای آنها شود که این امر باعث افزایش سرعت آسیمیلاسیون و افزایش رشد گیاهان خواهد شد [۴۹، ۱۲]. در بررسی انجام شده بر روی فلفل مشخص شد که مصرف متانول به همراه گلیسین مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش می‌دهد [۵۰] و نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف بعد از محلول‌پاشی با متانول گزارش شده است [۴۵].

پیله‌وری خمامی و همکاران [۲۰]در گیاه بادام زمینی (*Arachys hypogae*) مشاهده کردند که میزان عملکرد غلاف، تحت تأثیر متانول ۳۰ درصد حجمی به بیشترین مقدار خود رسید. خسروی و همکاران [۴۷] در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) مشاهده کردند که اعمال تیمار متانول ۴۰ درصد حجمی باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی آن شد. در تحقیق ما نیز اعمال تیمار متانول ۳۰ درصد بیشترین تأثیر را بر وزن خشک اندام هوایی داشت. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش رشد و عملکرد گیاهان در اثر کاربرد محلول‌های متانول بر روی قسمت‌های هوایی آنها، ناشی از عمل متانول به عنوان یک بازدارنده تنفس نوری می‌باشد [۲۲] و محلول‌پاشی متانول می‌تواند باعث افزایش وزن تر بوته‌های توتون شود که به مقدار متانول مصرفی بستگی دارد [۱۳]. در تحقیق ما نیز افزایش ۳۵ درصدی وزن خشک اندام هوایی مشاهده شد.

خسروی و همکاران [۴۷] روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) مشاهده کردند که تیمار ۴۰ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را روی عملکرد اسانس دارد و در تحقیق ساجدی و همکاران [۴۴] روی آویشن باغی مشاهده شد که بیشترین عملکرد اسانس، در سطح متانول ۲۰ درصد حجمی حاصل شد، این یافته با نتایج تحقیق ما مطابقت دارد.

خسروی و همکاران [۴۷] هنگام محلول‌پاشی بادرنجبویه اعلام کردند که بیشترین میزان بیوسنتز بتا کاریوفیلن، نرال، ژرانیال، کاریوفیلن‌اکساید، سیترونلال و چند ترکیب دیگر مربوط به محلول‌پاشی با ۵۰ درصدحجمی متانول است. در آزمایش حاضر نیز بیشترین میزان بیوسنتز کاریوفیلن‌اکساید، لینالول و متیل‌کاویکول مربوط به محلول‌پاشی با ۴۰ درصد حجمی متانول بود اما سایر اجزاء اسانس ریحان نظیر آلفاپینن، نرال، نریل فورمات، کاریوفیلن و لیمونن با افزایش غلظت متانول کاهش یافتند. در مجموع از نتایج به دست آمده از این تحقیقات می‌توان استنباط نمود که اعمال تیمارهای متانول بر روی گیاهان می‌تواند باعث تغییر در میزان بیوسنتز اجزای تشکیل دهنده اسانس شود.

افزایش آهن سبب افزایش فتوسنتز و کربوهیدرات‌های محلول و درنهایت بالا رفتن عملکرد می‌شود [۵۱]. طی آزمایشی روی گیاه گوجه فرنگی مشاهده شد که مقدار ماده خشک و عملکرد این گیاه با محلول‌پاشی برگی آهن و منگنز به طور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد [۵۲]. در تحقیق ما نیز محلول‌پاشی نانوکودکلات آهن بر ریحان سبب افزایش عملکرد رویشی گیاه شد.

در تحقیق ما مصرف نانوکودکلات آهن در بین تیمار شاهد و نانوکودکلات آهن ۰/۵ و ۱/۵ گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری ملاحظه نشد، که با نتایج برخی از محققین که بیان داشتند تیمارهای مختلف آهن تأثیر معنی‌داری روی ماده خشک گوجه‌فرنگی با یکدیگر ندارند، همخوانی دارد [۵۳].

در این تحقیق اعمال نانو کود کلات آهن سبب افزایش متیل‌کاویکول و کاریوفیلن در گیاه ریحان شد. از طرفی با افزایش درصد متانول فعالیت آنزیم گلوتاتیون پرکسیداز افزایش و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز کاهش یافت ولی افزایش نانوکلات آهن سبب افزایش هر دو آنزیم شد. با بررسی اثر متقابل تیمارهای متانول و نانوکلات آهن میتوان گفت که گیاه هنگام محلول‌پاشی با این تیمارها با توجه به اینکه این آنزیم‌ها افزایش یافته‌اند احتمالاً تحت تنش قرار گرفته است ولی نکته قابل توجه این است که درصد اسانس و ماده ارزشمند متیل کاویکول افزایش می‌یابد که با توجه به جدول همبستگی صفات (جدول شماره ۵) افزایش این ماده با کاهش دو ترکیب دیگر (نرال و نریل فرمات) همراه است، بنابراین شاید بتوان گفت که مسیر بیوسنتزی این مواد یکسان است. مشاهده حداکثر درصد و عملکرد اسانس در متانول و نانو کلات آهن همراه با حداکثر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ممکن است به علت حضور حداکثر میزان سوبسترای این آنزیم‌ها (H_2O_2 و O_2) در نتیجه افرایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد و احتمالاً در نتیجه افزایش ROS ها درصد اسانس و عملکرد اسانس افزایش پیدا کرده باشد زیرا ROS ها بویژه H_2O_2 به دلیل انتشار سریع و نیمه عمر طولانی‌تر می‌توانند نقش سیگنالینگ داشته باشد و احتمالاً توانسته است سبب افزایش بیان ژن‌های مسیر

جدول شماره ۵- جدول همبستگی بر برخی از صفات فیتوشیمیایی و آنزیمی گیاه ریحان

	PPO	GPX	Essence(٪)	α-pinene	Methyl chavicol	Neral	Neryl formate	Caryo phyllene	Linalool	Caryo-phyllene oxide	Limonene	کلروفیل
PPO	۱/۰۰۰											
GPX	۰/۰۵^{ns}	۱/۰۰۰										
Essence٪	۰/۲۴^{ns}	۰/۵۸**	۱/۰۰۰									
α- pinene	-۰/۱۴^{ns}	-۰/۲۳۲^{ns}	-۰/۳۳۲**	۱/۰۰۰								
Methyl-chavicol	۰/۳۶۲**	۰/۴۰۴**	۰/۶۶۲**	-۰/۳۵**	۱/۰۰۰							
Neral	۰/۰۶۲^{ns}	-۰/۵۵**	-۰/۵۸۳**	۰/۵۸۶**	-۰/۵۷۶**	۱/۰۰۰						
Neryl-formate	-۰/۱۶^{ns}	-۰/۴۴**	-۰/۶۵۹**	۰/۳۶**	-۰/۵۳**	۰/۶۳۶**	۱/۰۰۰					
Caryophyllene	۰/۲۹۷*	۰/۱۸۲^{ns}	۰/۳۴۷^{ns}	-۰/۰۰۵^{ns}	۰/۲۶۶*	-۰/۰۳۸^{ns}	-۰/۰۰۵^{ns}	۱/۰۰۰				
Linalool	۰/۱۱۹^{ns}	۰/۱۴۷^{ns}	۰/۰۲۸^{ns}	۰/۲۷۶*	۰/۹۹۳**	-۰/۰۸۷^{ns}	-۰/۰۰۵^{ns}	-۰/۱۰۱^{ns}	۱/۰۰۰			
Caryophelen-oxide	-۰/۳۸۴**	۰/۱۹۶^{ns}	۰/۱۳۸^{ns}	۰/۲۰۵^{ns}	۰/۲۹۸*	-۰/۰۹۳^{ns}	-۰/۰۰۵^{ns}	-۰/۱۳۹^{ns}	۰/۳۱۱*	۱/۰۰۰		
Limonene	۰/۰۸۲^{ns}	-۰/۱۶^{ns}	-۰/۱۵۵^{ns}	-۰/۱۷^{ns}	۰/۲۲۹^{ns}	۰/۰۷۳^{ns}	-۰/۰۰۵^{ns}	۰/۳۰۹*	-۰/۰۵۱^{ns}	۰/۱۷۵^{ns}	۱/۰۰۰	
Chlorophyll	-۰/۲۴^{ns}	-۰/۰۵۶^{ns}	۰/۱۸^{ns}	۰/۱۹۳^{ns}	۰/۱۹۸^{ns}	-۰/۱۹۶^{ns}	-۰/۲۹۹*	۰/۱۵۷^{ns}	۰/۱۹۹^{ns}	۰/۲۸۴*	-۰/۱۴۵^{ns}	۱/۰۰۰

*، ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌داری را نشان می‌دهد.

تولید اسانس در این گیاه شود. میزان کلروفیل نیز با افزایش تیمارهای متانول و نانوکلات آهن بیشتر شده است که می‌تواند بیانگر وضعیت مطلوب فیزیولوژیکی در این شرایط باشد.

در تحقیقی [۳۴] بر روی اسفرزه (*Plantago psyllium*) استفاده از نانو کود کلات آهن سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد شد. در مطالعه حاضر نیز استفاده از نانو کود کلات آهن فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و گلوتاتیون پرکسیداز را افزایش داد.

نتیجه‌گیری

متانول و نانو کود کلات آهن سبب ارتقا بسیاری از خصوصیات فیتوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیکی شد. به عنوان مثال بیشترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار اثرات متقابل ۲۰ درصد حجمی متانول و ۱ گرم بر لیتر نانو کود کلات آهن و کمترین آن نیز در تیمار متانول شاهد و ۱ گرم بر لیتر نانو کود کلات آهن به دست آمد. همچنین بیشترین مقدار اسانس ریحان در اثر متقابل ۴۰ درصد حجمی متانول و ۱/۵ گرم بر لیتر نانو کود کلات آهن و کمترین آن نیز در تیمار ۱۰ درصد حجمی متانول و نانو کود کلات آهن شاهد ملاحظه شد. از این یافته‌ها می‌توان چنین نتیجه گرفت که متانول در ترکیب با نانو کود کلات آهن می‌تواند باعث افزایش عملکرد بهتر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی ریحان شود.

منابع

1. Davis PH. Flora of Turkey. Edinburgh: University Press, 1982, 17: 463.

2. Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants.1st ed. Astan Quds Razavi press. Iran. 2006, pp: 243 - 250.

3. Zargari A. Medicinal plants. 6th ed. Tehran University Press. Iran, 2004, 4: 194 - 205.

4. Prakash J, Gupta S, Singh N, Kochupillai V and Gupta Y K. Ant proliferative chemo-preventive activity of *Ocimum sanctum* L., *Int J. Med. Biol. Environ*. 1999; 27: 165.

5. Grayer RJ, Kite GC, Goldstone FG, Brayan SE, Paton and Putiersky E. Infraspecific Taxonomy and essential oil chemo-types in sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Phytochem.* 1996; 43: 1033-1039.

6. Marotti M, Piccaglia R and Giovanelli E. Differences in essential oil composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. *J. Agric. Food Chem*. 1996; 44: 926-3929.

7. Zgorka G and Glowniaka K. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging the Lamiaceae family. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001; 26: 79-87.

8. Brnath J. Wild and cultivated medicinal plants. Mozokgazdasagi Pub-Budapest. Hungary 1993, pp: 232-234.

9. Simon JE, Quinn J and Murray RG. Basil: A source of essential oil. In: Advances in new crops. Eds J and Simon J E Timber Press, Portland. OR. 1990; 484-489.

10. Downie A, Miyazaki S, 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: 2305-2316.

11. Hanson AD and Roje S. One-carbon metabolism in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. 2001; 52: 119-137.

12. Makhdum M I, Malik M N A, Din S U, Ahmad F and Chaudhry F I. Physiological response of cotton to methanol foliar application. *J. Res. Sci.* 2002; 13: 37-43.

13. Ramberg HA, J S C, Bradley J S C, Olson J N, Nishio J, Markwell and Osterman J C. The role of

methanol in promoting plant growth: An update. Rev. Plant Bioch. *Biotechnol*. 2002; 1: 113- 126.

14. Madhaiyan M, Poonguzhali S, Sundaram S P and Tongmin SA. A new insight into foliar applied methanol influencing phyllopane methylotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugar cane (*Saccharum officinarum* L.), *Environ. and Exp. Bot*. 2006; 57: 168-176.

15. Gout E, Serge A, Bligny R, Rebeille F, Nonumura A, Benson A and Douce R. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon- 13 nuclear magnetic resonance studies. *Plant Physio*. 2000; 123: 287-296.

16. Holland M A. Occam's razor applied to hormonology. Are cytokinins produced by plants? *Plant Physio*. 1997; 115: 865 - 868.

17. Adam N R, Wall GW, Brooks T J, Lee T D, Kimball B A, Pinter P J Jr and Lamort R l. Changes in photosynthetic apparatus of spring wheat in response to CO_2-enrichment and nitrogen stress. Annual Research Report. 1997, pp: 75-77.

18. Galbally E and Kirstine W. The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *J. Atmos. Chem*. 2002; 43 (3): 195-229.

19. Nonomura A M and Benson A A. The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yields with methanol, *Proc. Nat. Acad. Sci*. USA. 1992; 89: 9794-9798.

20. Pilehvari Khomami R, Safarzadeh Vishkaei M N, Sajedi N, Rasuli M and Moradi M. Effect of methanol and zinc application on peanut qualities and quantities characteristics in Guilan region. *New Finding in Agriculture J*. 2008; 2 (4): 339-351.

21. McGriffen M E and Manthey J A. The role of methanol in promoting plant growth: a current evaluation. *Hortscience* 1996; 1 (7): 1092-1096.

22. Fall R and Benson AA. Leaf methanol the simplest natural product from plants. *Trends Plant Sci*. 1996; 1: 296-301.

23. Noorhosseini Niyaki SA, Safarzadeh Vishekaei MN, Aslani A and Valeh Sheida F. Effect of concentration and methanol foliar application time on growth and yield of mungbean. *J. Crop Production* 2011; 3 (3): 295-305.

24. Igamberdiev AU, Bykova NV and Kleczcowski LA. Origins and metabolism of formate in higher plants. *Plant Physiol. Biochem*. 1999; 37: 503-513.

25. Aspinall D. Effects of day length and light intensity on growth of barley. 4. Genetically controlled variation in response to photoperiod. *Australian Journal of Biological Sciences* 1966; 19: 517-534.

26. Dellongo OT, Gonzalez CA, Pastori G M and Trippi VS. Antioxidant defenses under hyperoxygent and hyperosmotic conditions in leaves of 2 lines maize with differential sensitivity to drought. *Plant and Cell Physio*. 1993; 34 (7): 1023-1028.

27. Lascano HR, Antonicelli GE, Luna CM, Melchiorre MN, Gomez LD, Racca RW, Trippi VS and Casano LM. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and *in vitro* studies. *Australian J. Plant Physio*. 2001; 28: 1095-1102.

28. Mengel K and Kirby EA. Principles of plant nutrition. International Potash, Inst. 1987, 320.

29. Mojtahedi M and Lesani H. The life of the green plant. Tehran University Press, 1996, 587.

30. Scrinis G. Nanotechnology and the environment: The nano-atomic reconstruction of nature. *Publisher Friends of the Earth Australia, Chain Reaction J*. 2006; 97: 23-26.

31. Koocheki A and Khajeh-Hosseini M. Modern agriculture. Mashhad SID Press. 2008, 704 pages.

32. Peyvandi M, Parande H and Mirza M. Comparison of Nano Fe chelate with Fe chelate Effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. *New Cell Mol Biotech*. 2011; 1 (4): 89-98.

33. Peyvandi M, Kamali Jamkani Z and Mirza M. Effect of iron nano-chelate with iron chelate on the growth and activity of antioxidant enzymes on *Satureja hortensis*. *New Cell Mol Biotech*. 2011; 2 (5): 26-31.

34. Aghazadeh-Khalkhali D, Mehrafarin A, Abdossi V and Naghdi-Badi H. Mucilage and Seed Yield of Psyllium (*Plantago psyllium* L.) in Response to Foliar Application of Nano-iron and Potassium Chelate Fertilizer. *J. Med. Plants* 2015; 4 (56): 23-34.

35. Mehrafarin A. Effect of methanol and nano-iron chelate fertilizer application on agronomical and medicinal yield of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). A Dissertation Submitted to the Faculty of Agriculture for the Degree of Ph.D. in Agronomy. *Thesis*, Science and Research Branch, Islamic Azad University. 2013; p 302. DOI: 10.13140/RG.2.1.4289.1364.

36. Mehrafarin A, Naghdi-Badi H, Qaderi A, Labbafi MR, Zand E, Noormohammadi GH, Qavami N and Seif Sahandi M. Changes in seed yield and mucilage of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in response to foliar application of methanol as a bio-stimulant. *J. Med. Plants* 2015; 54: 86-100.

37. Khosravi E, Mehrafarin A, Naghdibadi H, Tamjidi M, Taghi Khosravi M. Yield characteristics of *melissa officinalis* L. in response to the foliar application of methanol and ethanol solutions. *Planta Med*. 2016; 82 - PC36. DOI: 10.1055/s-0036-1578738.

38. British Pharmacopoeia, HMSO, London, 1988, pp: 2, A137 – A138.

39. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectrometry. Allured Publishing Corporation Carol Stream, IL. 2001.

40. Coseteng M and Lee C. Changes in apple polyphenol oxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *J. Food Sci.* 1987; 52: 985-989.

41. Paglia DE and Valentine WN. Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med*. 1967; 70: 158-169.

42. Rowe RN, Farr DJ, Richards BAJ. Effects of foliar and root applications of methanol or ethanol on the growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.), *New Zealand J. of Crop and Hort. Sci*. 1994; 22: 335-337.

43. Rymowicz W and Lenart D. Enhanced production of oxalic acid in *Aspergillus niger* by addition of methanol. *Electronic J. Polish Agri. Uni. Agronomy*, 2004; 7 (2) art.03.

44. Sajedi N, Ardakani M R. Effect of different levels of nitrogen, iron and zinc on physiological indices and forage yield of maize (*Zea mays* L.) in Markazi province. *Iranian J. Field Crops Res*. 2008; 6 (1): 99-110.

45. Rajala A, Karkkainen J, Peltonen J and Peltonen-Sainio P. Foliar applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C3 crops. *Indust. Crop. Prod*. 1998; 7: 129-137.

46. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Acadmic Press London 1995, pp: 313-323.

47. Khosravi M, Mehrafarin A, Naghdibadi H, Hajiaghai R, Khosravi E. Effect of sparying of methanol and ethanol application on yield of (*Echinacea purpurea* L.) in Karaj region, *Journal of Herbal Drugs* 2011; 2 (2): 121-128.

48. NadeAli E, PakNejad F, Moradi F, Nasri M and Pazuki A. Effects of methanol application on sugar beet (*Beta vulgaris*) relative water content, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters under drought Stress conditions. *Iranian J. Field Crop Sci*. 2011; 41 (4): 731-740.

49. Zbiec I, Karczmarczyk S and Podsiadlo C. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Elec. J. Polish Agri. Univ. Agro*. 2003; 6 (1): 1-7.

50. Mitchell A R, Crowe F J and Butler M D. Plant performance and water use of peppermint treated

with methanol and glycine. *J. Plant Nut*. 1994; 17: 1955- 1962.

51. Motamed AA. Effects of Zn, Mn and Fe fertilizers on quantitative and qualitative yield of bread wheat cultivar Pishtaz. *Seed and Plant Improvement J*. 2005; 21 (4): 631-634.

52. El-Lebodi A, El-Gala AM, and Sakr AA. Growth and nutritional status of tomato subjected to foliar spray with certain nutrient solution. *Agri. Res. Rev*. 1976; 54 (4): 109-127.

53. Biesiada A and Kołota E. Evaluation of some new greenhouse tomato cultivars for production on benches. Spontaneous and induced variation for the genetic improvement of horticultural crops. University Press. University of Technology and Life Sciences in Bydgoszcz. 2007, pp: 39-44.

Phytochemical Response of Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) to Application of Methanol Biostimulant and Iron Nano-chelate

Naghdi Badi H (Ph.D.)[1], Tolyat Abulhassani SM (Ph.D.)[1], Nazari M (M.Sc.)[2], Mehrafarin A (Ph.D.)[1*]

1- Medicinal Plants Research Centre, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
2- Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University (IAU), Tehran, Iran
*Corresponding auther: Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
Tel: +98-26-34764010-9, Fax: +98-26-34764021
E-mail: A.Mehrafarin@gmail.com

Abstract

Background: ***Ocimum basilicum*** **L. belongs to the** ***Lamiaceae*** **family. Its essential oil is anti-bacterial and anti-fungi it is used an appetizer and counterfeit. Methanol spraying as a source of providing carbon for C_3 plant, can increase the plant yield, and its rate of ripping it can decrease the effect of water stress.**

Objective: The present study was conducted to investigate the effect of foliar application of methanol and nano-iron chelated fertilizer on phytochemical and morph physiological characteristics of basil.

Methods: In this research, the factorial experiment in a randomized complete blocks design with 20 treatments and 3 replications was carried out. The treatments of this experiment were consisted of five levels of Methanol (0, 10, 20, 30, and 40 %) and four levels of Nano-iron chelate (0, 0.5, 1, 1.5 g/L) fertilizer.

Results: The study showed that spraying methanol with 20% volume along with 1 g/L of nano-iron chelated increased dry matter and oil yield and also increased methyl-cahvicol and Caryophyllene in Basil. Results showed that activity of Glutathione peroxidase enzyme was increased with increasing the percentage of bio simulative methanol, while activity of polyphenol oxidase was decreased.

Conclusion: Nano-iron chelated increased the activity of these enzymes. It can be concluded that higher densities of bio-simulative methanol and Nano-iron chelated increased essential oil, methyl-cahvicol and some other affective enzymes which decrease induced environmental stresses. Although, higher densities of them would decrease biosynthesis of neral and neryl formate.

Keywords: ***Ocimum basilicum*** **L., Foliar applied Methanol, Glutathione peroxidase, Methyl-cahvicol, Nano-iron chelated, Polyphenol oxidase**