

اثر محلول پاشی اتانول و متانول بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی
(*Digitalis purpurea* L.)

افسون رضایی علولو^۱، محسن ثانی خانی^{۲*}، عزیزاله خیری^۲، ملیحه یعقوبی^۳

۱- دانشجوی دکترای گیاهان دارویی، گروه باغبانی، دانشگاه زنجان، ایران

۲- استادیار و دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

۳- استادیار گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه زنجان، ایران

چکیده

به منظور بررسی تاثیر محلول پاشی سطوح مختلف اتانول و متانول بر شاخص‌های بیوشیمیایی گل انگشتانه ارغوانی (*Digitalis purpurea* L.) آزمایشی به صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح اتانول (۵ و ۱۰ درصد) و متانول (۵ و ۱۰ درصد) به همراه تیمار شاهد (آب مقطر) بود. نتایج آزمایش نشان داد که حداکثر مقدار کلروفیل کل (۱/۷۸ میلی گرم بر گرم)، کاروتنوئید کل (۰/۰۶۵ میلی گرم بر گرم)، فنل کل (۱۵/۳۵ میلی گرم بر گرم)، فلاونوئید کل (۲/۵۸ میلی گرم بر گرم) و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی (۴۳/۷۶ درصد) تحت تیمار متانول ۱۰ درصد به دست آمد. بیشترین میزان پرولین (۴/۴۷ میلی گرم)، قند محلول (۷۶/۲۰ میلی گرم بر گرم) و محتوای آب نسبی (۷۶/۰۲ درصد) و نیتروژن برگ (۱/۶۱ درصد) تحت تیمار اتانول ۱۰ درصد مشاهده شد. شاخص نشت یونی (۱۵/۲۱ درصد) با کاربرد برگی اتانول ۱۰ درصد و فعالیت آنزیم کاتالاز (۱/۶۶ میلی گرم بر گرم پروتئین) و آنزیم پراکسیداز (۰/۳۴ میلی گرم بر گرم پروتئین) با محلول پاشی متانول ۱۰ درصد کاهش نشان دادند با توجه به نتایج به دست آمده، کاربرد سطوح مختلف هیدروالکل‌ها، جهت بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: ظرفیت آن‌تی‌اکسیدانی، کاتالاز، گل انگشتانه، هیدروالکل، پرولین،

Effect of ethanol and methanol foliar application on biochemical indices of *Digitalis purpurea* L.

¹Afsoon Rezaie Allolo, ^{2*}Mohsen Sanikhani, ²Azizollah Kheiry, ³Maliheh Yaghoobi

¹Phd. student of Horticultural science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

² Faculty members of Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

³ Department of Engineering, Faculty of Chemical Engineering, University of Zanjan

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

Abstract

In order to investigate the effect of foliar application of different levels of ethanol and methanol on the biochemical characteristics of *Digitalis purpurea* L., an experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications at the University of Zanjan research greenhouse. The treatments consisted of two levels of ethanol (5 and 10%) and methanol (5 and 10%), along with a control treatment (distilled water). The results showed that the maximum amount of total chlorophyll (1.78 mg/g), total carotenoid (0.10 mg/g), total phenol (15.35 mg/g), and total flavonoid (58.2 mg/g) and antioxidant activity (43.76%) were obtained under a 10% methanol treatment. The highest amounts of proline (4.47 mg), soluble sugar (76.20 mg/g), and relative water content (76.02%) were observed under a 10% ethanol treatment. The ion leakage index (15.21%) with foliar application of 10% ethanol and catalase enzyme (1.66 mg/g protein) and peroxidase enzyme (0.34 mg/g protein) activity showed a decrease with foliar application of 10% methanol. According to the results, the application of different levels of hydroalcohols improved the biochemical properties of *Digitalis purpurea* L.

Keywords: Antioxidant activity, Catalase, *Digitalis Purpurea* L., Hydroalcohol, Proline

مقدمه

گل انگشتانه ارغوانی (*Digitalis Purpurea* L.) متعلق به خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) بوده که به علت شکل خاص گل هایش دستکش روباه (foxglove) نامیده می شود. جنس *Digitalis* از این تیره به ۲۰-۱۲ گونه تقسیم می شود و گونه های مختلف این جنس عموماً یک ساله و علفی و گاهی درختچه های چند ساله هستند. برگ های گونه های مختلف این جنس، حاوی ترکیبات گلیکوزیدی قلبی (کاردنولید) هستند که تاکنون ۲۳ نوع مختلف آن در عصاره های حاصل از گونه *D. purpurea* شناخته شده است. در میان ترکیبات گلیکوزیدی حاصل از این گیاهان، دیگوکسین و دیجیتوکسین هنوز هم به عنوان داروهای مفید در درمان نارسایی های قلبی استفاده می شود (Newman et al., 2008).

با توجه به آسیب های جدی که در دهه های گذشته به واسطه استفاده بی رویه از نهاده های شیمیایی و تنظیم کننده های رشد گیاهی برای بالا بردن تولید محصولات کشاورزی، به محیط زیست و سلامت انسان ها وارد شده است، در سال های اخیر نوعی تجدیدنظر در مورد مصرف کودها و سم های شیمیایی که یکی از دستاوردهای کشاورزی رایج است در جریان می باشد. در نتیجه تلاش برای بالا بردن تولید زیست توده و ماده موثره آن ها بدون کاربرد نهاده های شیمیایی و استفاده از ترکیبات غیر شیمیایی با اثرات سوء کمتر به عنوان جایگزین مورد نیاز است (Koocheki and Khajeh Hosseini, 2008).

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای رساندن مواد غذایی و عناصر مورد نیاز گیاه، محلول‌پاشی یا تغذیه از طریق برگ می‌باشد که به دلیل سرعت جذب بالا از طریق اندام‌های هوایی در فاصله زمانی کوتاه‌تری می‌توان به نتیجه مطلوب دست یافت و نیاز غذایی گیاه را تامین کرد (عسگری و معین‌فرد، ۱۳۹۳).

استفاده از ترکیبات الکلی برای تحریک رشد موجودات فتوسنتزکننده، برای اولین بار در سال ۱۹۵۱ توسط بنسون (Benson) گزارش شد. متانول (CH_3OH) و اتانول ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) ساده‌ترین نوع الکل‌ها می‌باشند که از فعالیت بی‌هوازی گونه‌های زیادی از باکتری‌ها تولید می‌شوند و مقدار اندکی از آن‌ها وارد جو شده که پس از چند روز، توسط اکسیژن و نور خورشید اکسید شده و به آب و دی‌اکسیدکربن تبدیل می‌شود (Haakana *et al.*, 2001; Yavarpanah *et al.*, 2015). متانول، اتانول و سایر الکل‌ها به صورت غیرفعال و از طریق انتشار ساده از غشاء سلولی جذب سلول‌های گیاه می‌شوند و سرعت جذب آن‌ها به طور مستقیم به غلظت آن‌ها بستگی دارد. پس از محلول‌پاشی الکل‌ها روی گیاه بدون توجه به محل تیمار کردن یعنی محلول‌پاشی روی یک برگ یا محلول‌پاشی روی کل برگ‌های گیاه، عکس‌العملی سیستمیک نسبت به محلول‌پاشی الکل‌ها در کل گیاه مشاهده می‌شود (Zbiec and Padsiad, 2003).

بر طبق گزارشات، دو برابر شدن غلظت دی‌اکسیدکربن سبب افزایش خطی کارایی مصرف نور تا ۳۰٪ می‌شود و همچنین افزایش غلظت متانول در بافت‌های گیاهی بر راندمان تبدیل کربن اثر مثبت می‌گذارد. افزایش سرعت رشد محصول پس از محلول‌پاشی متانول به علت افزایش غلظت در دی‌اکسید کربن در برگ‌ها و استفاده از متانول به عنوان یک منبع مستقیم برای سنتز اسید آمینه سرین و یا کاهش هدر رفت کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد (Richter, 2006). در اثر محلول‌پاشی متانول، دی‌اکسید کربن از اکسیداسیون سریع متانول بر روی گیاه به دست می‌آید و می‌تواند با موفقیت در جذب توسط رایسکو با اکسیژن رقابت کند (Ramirez *et al.*, 2006). بررسی‌های دیگر نشان دادند محلول‌پاشی متانول سبب افزایش ۱۶ تا ۲۲ درصد عملکرد در سویا می‌شود که علت این افزایش عملکرد، افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه در مرحله‌ی رشد است. همچنین متانول باعث بیشتر شدن فتوسنتز گیاه و افزایش رشد گیاه می‌شود (Xiao-Tang *et al.*, 2008). نتایج متفاوتی در مورد کاربرد برگی هیدروالکل‌ها در گیاهان مختلف توسط پژوهشگران گزارش شده است، طبق تحقیقی محلول‌پاشی گیاه توت فرنگی (*Fragaria × ananasa* cv. Gaviota) به صورت ترکیبی با اتانول و متانول ۱۵ درصد موجب افزایش رشد و عملکرد میوه شد (Yavarpanah, 2015). در مقابل در بررسی که بر روی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) انجام شد، نتایج نشان داد که محلول‌پاشی با کمترین و بیشترین غلظت هیدروالکل‌ها (۱۰ و ۴۰ درصد حجمی اتانول و متانول) باعث تأثیر منفی روی تعداد شاخه‌های جانبی شد (نورافکن و همکاران، ۱۳۹۷). استفاده از تیمارهای متانول و اتانول موجب بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی در گیاه دارویی ریحان گردید (مقدم و همکاران، ۱۳۹۷). همچنین بر اساس گزارش YazdiFar و همکاران (۲۰۱۵) محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول منجر به افزایش معنی‌دار میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه همیشه بهار گردید.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

با توجه به وجود گزارشات مختلف در مورد اثرات مثبت و منفی کاربرد برگی متانول و اتانول در تولید گیاهان سالم (بدون کاربرد نهاده‌های شیمیایی)، مطالعه حاضر جهت بررسی و مقایسه اثربخشی نوع و غلظت هیدروالکل‌های مذکور بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فصل‌های پاییز و زمستان سال ۱۳۹۹ به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام شد. هر تکرار شامل سه گلدان حاوی دو بوته برای هر تیمار به همراه تیمار شاهد و مجموع ۴۵ گلدان در نظر گرفته شد. نتایج ارزیابی خصوصیات مهم فیزیکی و شیمیایی خاک بستر در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)	بافت خاک	ماده آلی (درصد)	پتاسیم (گرم بر کیلوگرم)	سدیم (گرم بر کیلوگرم)	کلسیم (گرم بر کیلوگرم)	نیتروژن (درصد)	EC (دسی زیمنس بر متر)	pH
۳۷	۳۸	۲۵	لوم رسی	۰/۹۴	۰/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۰۷	۱/۴۹	۷/۴

تیمارهای آزمایش شامل دو سطح اتانول (۵ و ۱۰ درصد) و دو سطح متانول (۵ و ۱۰ درصد) به همراه تیمار شاهد (آب مقطر) بودند. بذره‌های گل انگشتانه ارغوانی (شرکت پاکان بذر) قبل از کشت با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سپس چندین مرحله با آب مقطر شستشو داده شدند. بذرها ابتدا در سینی نشا حاوی کوکوپیت و پیت ماس در اوایل آبان ماه سال ۹۹ کشت شدند. سپس در اوایل بهمن ماه و در مرحله‌ی چهار برگی ۳ عدد نشا به گلدان‌های از جنس پلاستیک به قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۲ سانتی‌متر منتقل شدند. بستر کشت شامل ترکیبی از خاک مزرعه، کوکوپیت و پرلیت (به نسبت ۳:۱:۱) بود. میانگین دمای روز و شب گلخانه در طول دوره آزمایش به ترتیب ۲۵ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰٪ تنظیم شد. در طول آزمایش گیاهچه‌ها هفته‌ای یک بار با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند کامل تغذیه شدند (Hoagland and Arnon, 1950). به غیر از محلول‌دهی هر سه روز یک‌بار گیاهچه‌ها با آب شیر و به مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر توسط بشر مدرج آبیاری شدند. pH محلول توسط اسید سولفوریک غلیظ در حد ۵/۶ با کمک pH متر مدل ۷۴۴ (Metrohm) تنظیم گردید. بعد از انتقال نشاها به گلدان‌ها و استقرار کامل آن‌ها در اواخر خرداد ماه محلول‌پاشی با تیمارهای مذکور شروع شده و چهار مرتبه به صورت ۱۰ روز یک‌بار انجام گرفت و ۱۰ روز بعد از آخرین محلول‌پاشی، از برگ‌ها نمونه‌گیری و جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه منتقل شد.

صفات مورد اندازه‌گیری

اندازه‌گیری رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری کلروفیل کل و کاروتنوئید از روش آرنون (۱۹۶۷) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ وزن شد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد و پس از سانتریفیوژ کردن با دور پنج هزار به مدت ده دقیقه مقدار جذب در

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۵۱۰ و ۴۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل SAFAS MONACO (RS 232) خوانده شد و در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آورده شد. در این رابطه (V) حجم نهایی عصاره، (A) جذب نور در طول موج‌های مشخص، (W) وزن تر نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

$$\text{Total Chlorophyll} = [20.2 (A645) + 8.02 (A663)] \times V / (W \times 1000)$$

$$\text{Carotenoid} = [7.6 (A480) - 1.49 (A510)] \times V / (W \times 1000)$$

سنجش میزان فنل کل

میزان فنل کل بر اساس روش فولین سیوکالتو با استفاده از گالیک اسید به عنوان استاندارد به روش Meda و همکاران (۲۰۰۵) اندازه گیری شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره صاف شده ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو ۵۰ درصد اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل کل موجود در عصاره‌ها محاسبه شد در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم با استفاده از کوئرستین به عنوان استاندارد به روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. مقدار ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ با ۱۰ سی‌سی متانول اسیدی در هاون چینی ساییده شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره صاف شده ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. میزان جذب نوری در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فلاونوئید کل موجود در عصاره‌ها محاسبه شد و محتوای فلاونوئید بر حسب معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

مقدار ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه با ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) که حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA یک میلی‌مولار ساییده شد. تمام مراحل استخراج بر روی یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با ۱۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن مخلوط و دستگاه اسپکتوفتومتر با این مخلوط صفر گردید. طول موج اسپکتوفتومتر بر روی طول موج ۲۴۰ نانومتر و مدت زمان یک دقیقه و با فاصله زمانی ۵ ثانیه تنظیم شد. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره به مخلوط اضافه شده و بلافاصله تغییرات جذب نور آن با فاصله زمانی ۵ ثانیه و به مدت یک دقیقه خوانده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر و بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن بر تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Dhindsa et al., 1981).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

مقدار ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با ۷ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۶ میکرولیتر گایاکول مخلوط شده و دستگاه اسپکتوفتومتر با استفاده از این مخلوط صفر گردید. دستگاه اسپکتوفتومتری روی طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه با فاصله زمانی ۲۰ ثانیه تنظیم گردید. سپس ۱۵ میکرو لیتر عصاره به مخلوط اضافه و بلافاصله تغییرات جذب نور خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد (Dhindsa et al., 1981).

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH اندازه‌گیری شد. این آزمایش براساس واکنش رادیکال‌های آزاد پایدار DPPH با ترکیبات دهنده هیدروژن مانند فنل‌ها استوار می‌باشد. ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH تهیه شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر عصاره به همراه ۱/۵ میلی‌لیتر از DPPH به لوله آزمایش ریخته شد. جذب آن بعد از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در اتاق تاریک، در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید. (Brand-Williams et al., 1995).

$$\text{معادله (۳)} = (\text{Ac-As})/\text{Ac} * 100$$

Ac: میزان جذب برای نمونه شاهد مثبت

As: میزان جذب نمونه گیاهی

سنجش پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا ۰/۵ گرم از برگ توزین شده در هاون چینی در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ به خوبی ساییده شده، مخلوط هموژنیزه شده در دستگاه سانتریفوژ به مدت پنج دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از محلول شناور را به فالکون منتقل نموده و سپس دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بلافاصله پس از خارج کردن از حمام آب به مدت چند دقیقه در حمام یخ قرار گرفتند. سپس به هر لوله آزمایش چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه تکان داده شدند تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس لوله‌ها برای مدتی در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. در این مدت در داخل لوله آزمایش دو فاز رویی و زیرین کاملاً از هم قابل تشخیص شده و فاز رویی را که به رنگ صورتی و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود برداشته و

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bates et al., 1973).

$$[(\text{میلی گرم نمونه}) + (115/13 / \text{میلی لیتر تولوئن})] \times (\text{میلی گرم پرولین بر میلی لیتر}) = \text{میلی گرم پرولین بر گرم وزن تر}$$

سنجش قند محلول

سنجش قند محلول برگ به روش کوچرت (۱۹۸۷) انجام شد. بدین صورت که ۰/۱ گرم از نمونه‌ها در ۱۰ میلی لیتر الکل ۷۰ درصد به مدت یک هفته قرار داده شد. سپس ۱ میلی لیتر از محلول رویی برداشته و به آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه شد و پس از نیم ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز و تعیین میزان قند بر حسب میلی گرم در هر گرم وزن خشک نمونه‌ها محاسبه شد.

اندازه گیری محتوای آب نسبی

برای اندازه گیری محتوای آب نسبی برگ، برگ کاملاً توسعه یافته به چند قسمت تقسیم شد و پس از توزین تکه‌های برگ به کمک ترازوی دیجیتال وزن تر آن‌ها محاسبه گردید. سپس آن‌ها به پتری دیش‌های درب دار حاوی آب مقطر منتقل شدند و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار داده شدند. پس از خارج کردن برگ‌ها از آب مقطر رطوبت اضافی سطح آن‌ها توسط دستمال کاغذی خشک شده و سپس برای به دست آوردن وزن آماس آن‌ها دوباره وزن شدند. پس از تعیین وزن آماس، قطعات برگ به آن (۷۰ درجه سانتی گراد) منتقل شدند و پس از ۴۸ ساعت وزن خشک آن‌ها تعیین گردید. در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه‌ی زیر به صورت درصد محاسبه شد (Galmes et al., 2007).

$$RWC = 100 \times [(\text{وزن خشک} - \text{وزن تورژسانس}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})]$$

اندازه گیری شاخص پایداری غشا

به منظور اندازه گیری شاخص پایداری غشای سلول، ۱ گرم برگ با آب مقطر شسته شده و در لوله‌های حاوی ۲۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شدند. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سرد شدن با دستگاه هدایت سنج قرائت شد (EC_1) سپس لوله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سرد شدن قرائت شد (EC_2). شاخص پایداری غشای سلولی با استفاده از رابطه‌ی زیر به صورت درصد محاسبه شد (Sairam et al., 2002).

$$EL = (EC_1 / EC_2) \times 100$$

EC_1 = هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۴۰ درجه سانتی گراد

EC_2 = هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد

تعیین میزان نیتروژن با استفاده از دستگاه کج‌دال

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

برای اندازه‌گیری نیتروژن از روش امامی (۱۳۷۵) استفاده شد. این آزمایش در چهار مرحله آماده کردن نمونه، هضم نمونه، تقطیر و مرحله تیتراژ انجام شد. در مرحله اول مقدار ۰/۵ گرم از هر نمونه وزن و در داخل کاغذ مخصوص پیچیده و سپس به درون ارلن منتقل شدند. در مرحله هضم میزان ۸ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (۹۶ درصد) و ۳ گرم کاتالیزور سلنیوم سولفات (۹۶۰ گرم سولفات پتاسم، ۱۰ گرم دی‌اکسیدسلنیوم، ۴۰ گرم سولفات مس) به نمونه‌ها اضافه شد و زمان دستگاه روی ۱۵۰ دقیقه و درجه حرارت دستگاه روی ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. در مرحله سرد شدن نمونه‌ها و رسیدن درجه حرارت آن‌ها به درجه حرارت محیط آزمایشگاه، ارلن داخل دستگاه تقطیر قرار گرفت و پس از ۱۵ دقیقه محلول تقطیر شده داخل ارلن جمع شده و آماده‌ی تیتراسیون شد و تیتراسیون با اسیدکلریدریک ۰/۵ نرمال آرام و قطره قطره انجام گرفت. اضافه کردن اسیدکلریدریک به محلول تا جایی ادامه پیدا کرد که رنگ محلول ثابت شد و نمونه به رنگ بنفش در آمد. در نهایت میزان نیتروژن با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$P = \frac{V}{P} \times 100 \times 0.014 = \text{درصد نیتروژن}$$

P = وزن نمونه بر حسب گرم

V = حجم اسیدکلریدریک مصرفی در مرحله تیتراسیون بر حسب میلی‌لیتر

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح احتمال ۱ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کاربرد برگی سطوح مختلف اتانول و متانول بر خصوصیات بیوشیمیایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

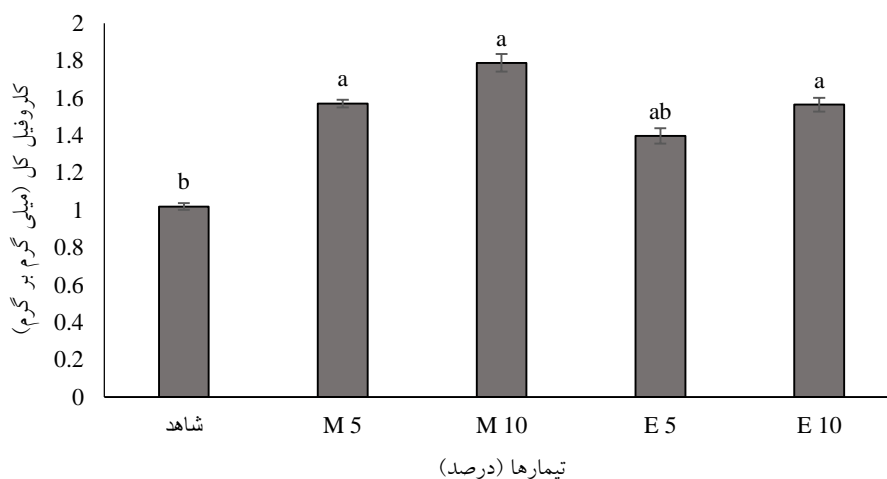
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی متانول و اتانول بر خصوصیات بیوشیمیایی گل انگشتانه ارغوانی

منابع تغییرات		درجه آزادی	کلروفیل	کارتنوئید	فنل	فلاونوئید	پرولین	قند	کاتالاز	پراکسیداز	ظرفیت	نیتروژن	محتوای آب	نشت یونی
										ز		نسبی برگ		
تیمار	۴	۰/۲۴۶۰*	۰/۰۰۲۶*	۱۲/۹۶۱۸*	۱/۶۰۴۹*	۱/۷۶۰۱*	۲۱۸/۸۲۹۷*	۱/۲۱۷۶*	۱/۰۸۲۷*	۲۵۸/۴۴۰۶*	۰/۰۳۰۰*	۲۸/۹۲۵۴*	۲۰/۷۳۶۶*	
خطا	۱۰	۰/۰۰۳۵	۰,۰۰۰۸	۰/۰۵۹۰	۰/۰۰۱۴	۰/۰۳۸۱	۰/۰۲۱۱	۰/۱۰۳۴	۰/۰۰۹۱	۵/۴۹۵۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۹۵۹*	۰/۰۴۴۳	
ضریب تغییرات (در صد)		۴/۰۷۱۸	۵/۶۹۰۵	۱/۹۳۹۸	۲/۳۱۳۶	۵/۵۳۱۲	۰/۲۰۵۶	۱/۴۸۰۵	۹/۷۸۹۶	۲/۳۰۴۷	۰/۶۷۲۹	۰/۴۳۰۴	۱/۱۸۵۵	

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

کلروفیل کل

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد برگی سطوح مختلف هیدروالکل‌ها بر میزان کلروفیل کل تاثیر مثبت نشان داد، به طوری که حداکثر مقدار کلروفیل کل (۱/۷۸ میلی گرم بر گرم) با کاربرد متانول ۱۰ درصد به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد (۱/۰۱ میلی گرم بر گرم) در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (شکل ۱).

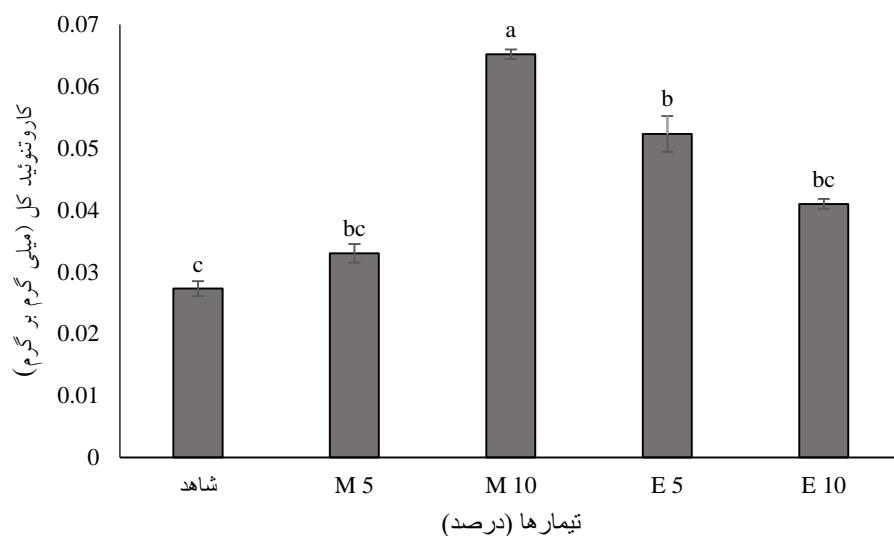


شکل ۱- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان کلروفیل کل. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

کاروتنوئید کل

بررسی داده‌های حاصل نشان داد که میزان کاروتنوئید کل (۰/۰۶ میلی گرم بر گرم) با محلول پاشی متانول ۱۰ درصد افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد (۰/۰۲ میلی گرم بر گرم) نشان داد (شکل ۲).

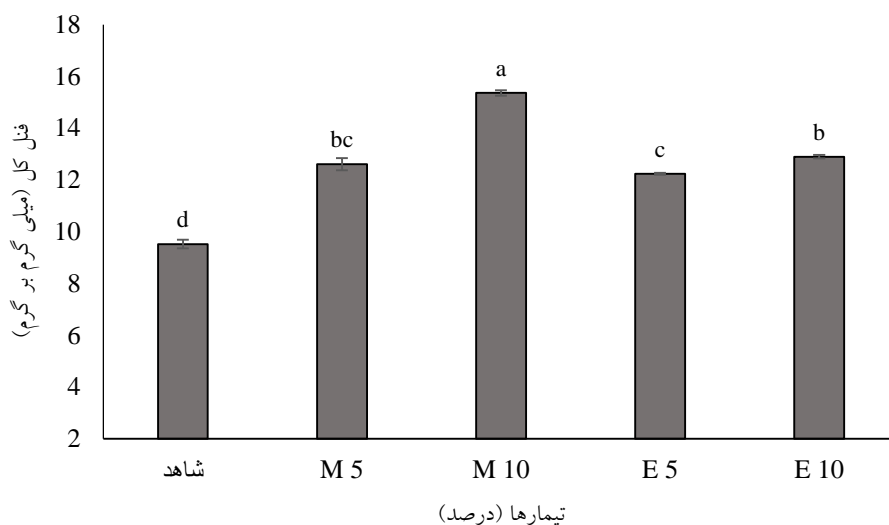
مجله فرایند و کارکرد گیاهی



شکل ۲- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان کاروتنوئید کل. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

فنل کل

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که استفاده از هیدروالکل‌ها افزایش معنی داری را در میزان فنل کل سبب شد به طوری که حداکثر مقدار فنل کل (۱۵/۳۵ میلی گرم بر گرم) در تیمار متانول ۱۰ درصد و کمترین میزان آن (۹/۵۱ میلی گرم بر گرم) در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۳).



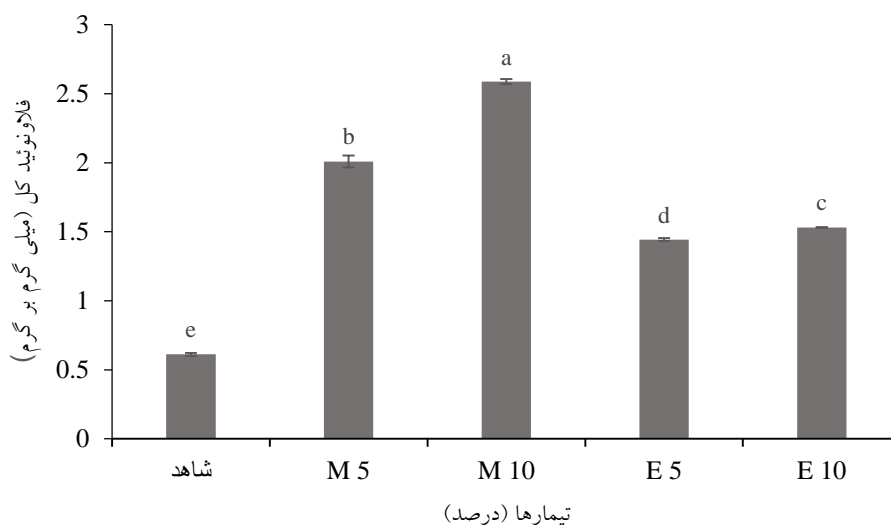
این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

شکل ۳- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فنل کل. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

فلاونوئید کل

نتایج نشان داد که کاربرد برگی اتانول و متانول موجب افزایش میزان فلاونوئید کل برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی شد. حداکثر مقدار فلاونوئید کل (۲/۵۸ میلی گرم بر گرم) در تیمار اتانول ۱۰ درصد و کمترین مقدار آن (۰/۶۱ میلی گرم بر گرم) در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۴).

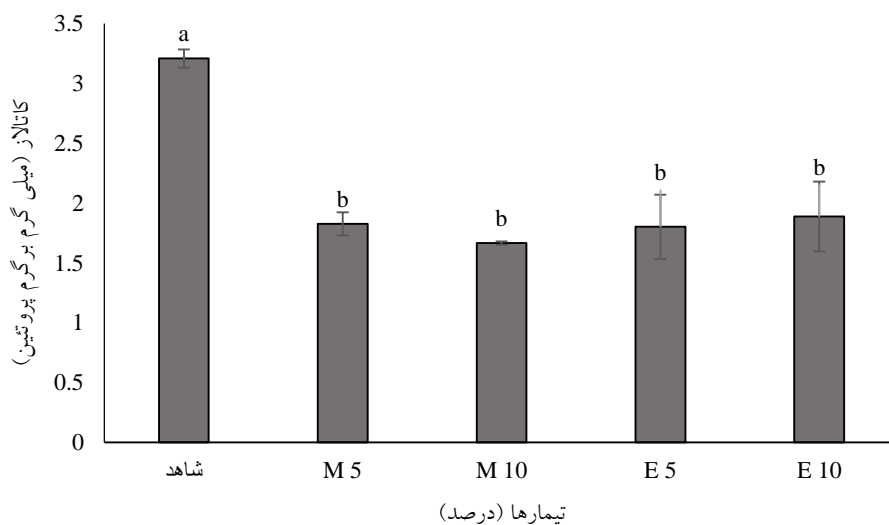


شکل ۴- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فلاونوئید کل. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، محلول پاشی گیاهان با هیدروالکل‌ها موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. حداقل میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار متانول ۱۰ درصد به دست آمد که نسبت به بقیه تیمارها تفاوت معنی داری نداشت ولی نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری در سطح احتمال یک درصد نشان داد (شکل ۵).

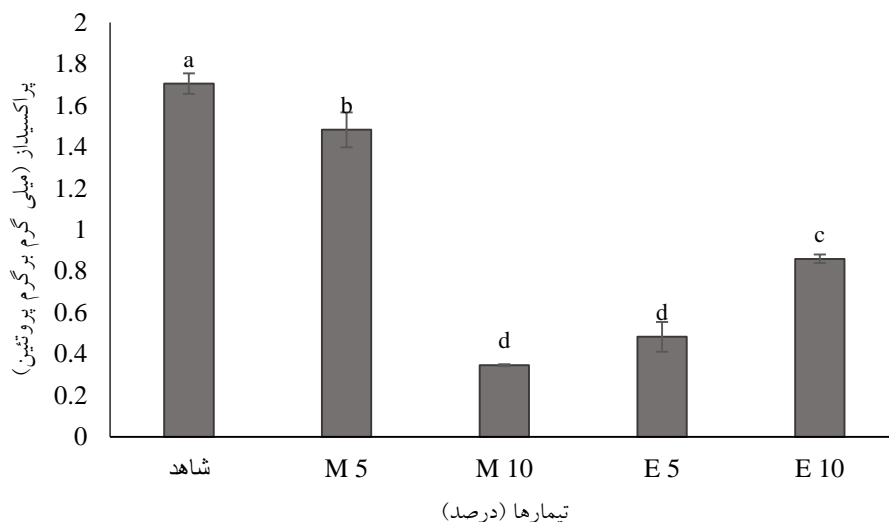
این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی



شکل ۵- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد برگی سطوح مختلف اتانول و متانول در گیاهان تیمار شده موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید. حداقل مقدار آن در تیمار ۱۰ متانول درصد و حداکثر مقدار آن در تیمار شاهد بدون محلول پاشی هیدروآلکل مشاهده شد (شکل ۶).

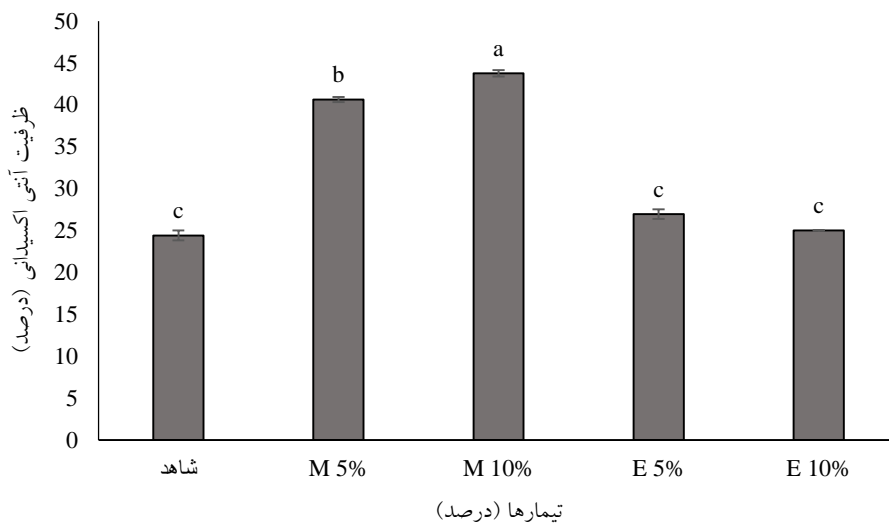


شکل ۶- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

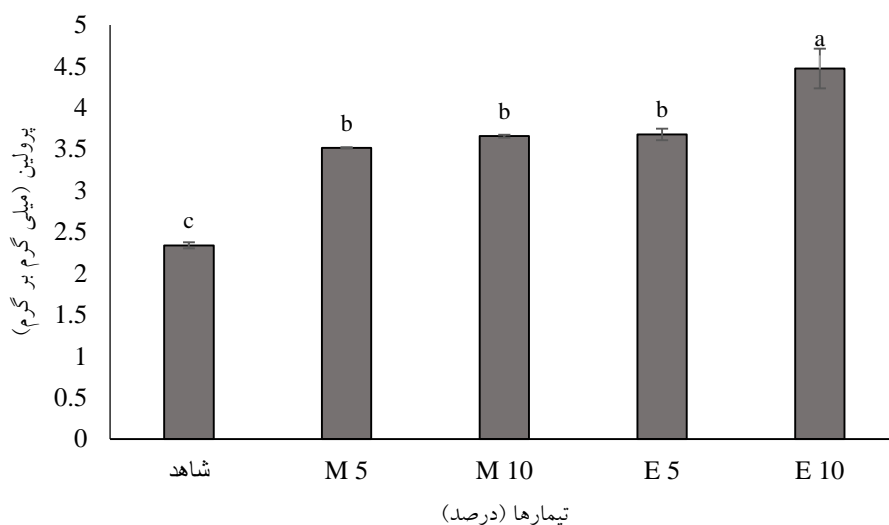
مجله فرایند و کارکرد گیاهی

طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها تحت تیمار با هیدروالکل‌ها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فعالیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می‌باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

میزان پرولین در گیاهان محلول پاشی شده با سطوح مختلف اتانول و متانول نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد به طوری که حداکثر مقدار پرولین (۴/۴۷ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار اتانول ۱۰ درصد و کمترین مقدار آن (۲/۳۳ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار شاهد (بدون محلول پاشی) مشاهده شد (شکل ۸).

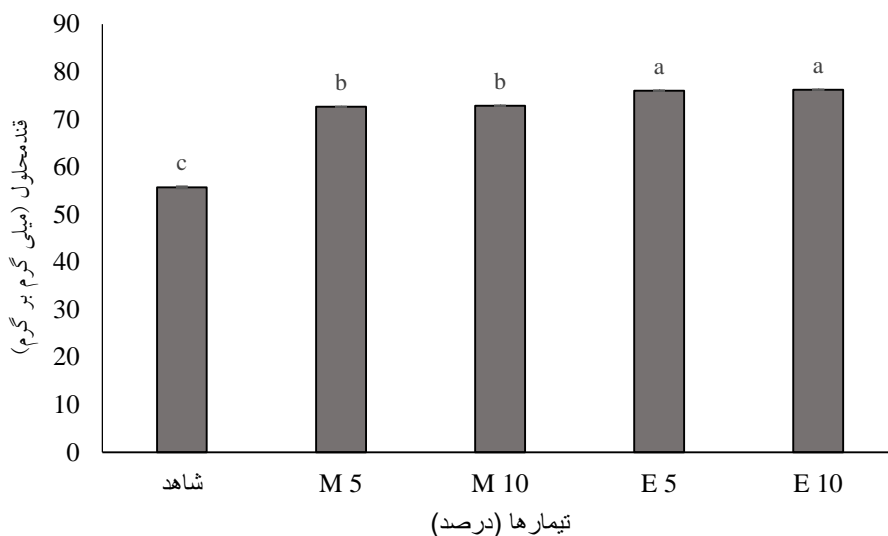


این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

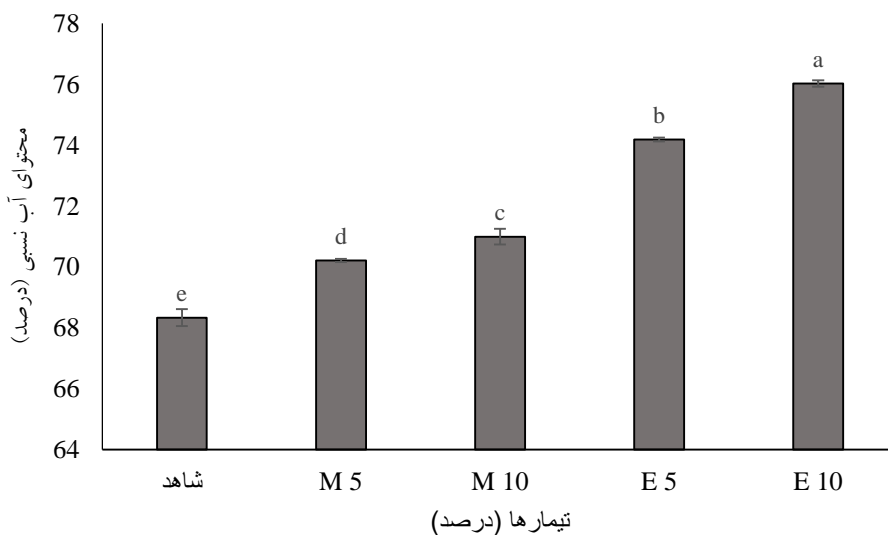
شکل ۸- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان پرولین. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

طبق نتایج به دست آمده محلول پاشی گیاهان با هیدروالکل‌ها باعث افزایش معنی دار درصد قند محلول برگ‌ها شد (شکل ۹).



شکل ۹- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان قند محلول. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محتوای آب نسبی برگ گیاهان تیمار شده با سطوح مختلف اتانول و متانول افزایش معنی داری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد (شکل ۱۰).

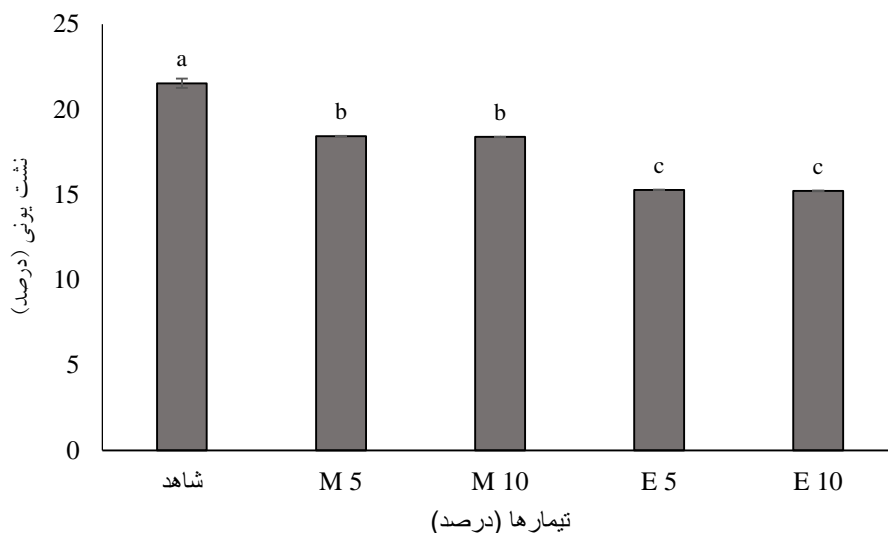


این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

شکل ۱۰- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان محتوای آب نسبی. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد

بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که نشت یونی برگ‌های گیاهان تحت تیمار هیدروالکل‌ها نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی داری را نشان داد (شکل ۱۲).

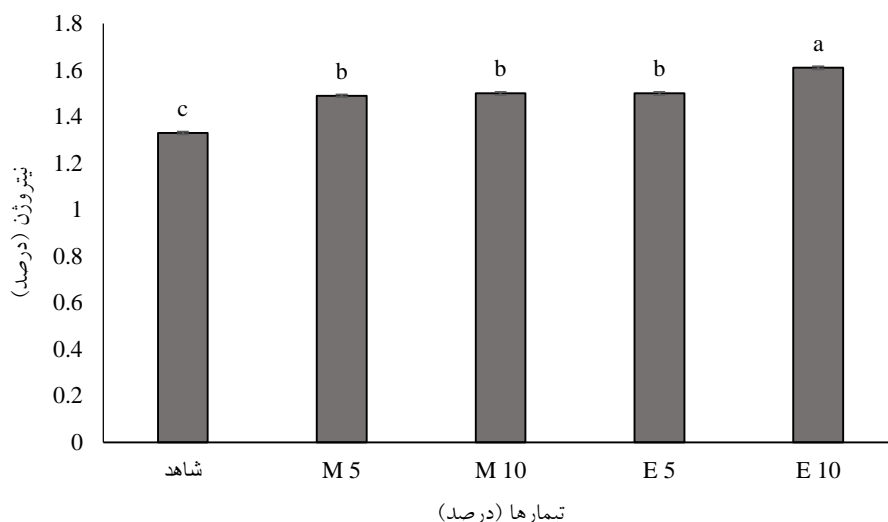


شکل ۱۱- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان نشت یونی. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها استفاده از سطوح مختلف الکل‌ها به صورت محلول پاشی موجب افزایش میزان نیتروژن برگ‌ها شد و حداکثر مقدار نیتروژن با محلول پاشی متانول ۱۰ درصد حاصل شد (شکل ۱۲).

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی



شکل ۱۲- اثر سطوح مختلف محلول پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان نیترژن برگ. بارها نشان دهنده خطای استاندارد (ES) می باشد. ستون های دارای حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

بحث

یکی از عوامل مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی برگ، محتوای کلروفیل برگ می باشد که در پژوهش های مختلف همبستگی مثبتی بین میزان فتوسنتز برگ و محتوای کلروفیل آن گزارش شده است. از سوی دیگر تشکیل کلروفیل در حضور نور نیازمند هورمون سیتوکینین می باشد که الکل ها با افزایش محتوای سیتوکینین گیاه موجب افزایش تشکیل کلروفیل و کاروتنوئید می شوند (Ramirez *et al.*, 2006). متانول و اتانول با اکسیداسیون سریع به دی اکسید کربن در برگ ها نقطه جبران دی اکسید کربن را افزایش می دهند. همچنین با افزایش فشار آماس، درصد قند و تورم سلول به توسعه برگ ها، افزایش کلروفیل و محتوای کاروتنوئید کل کمک می کنند (Zbiec and Podsiad., 2003).

با توجه به این که کلروفیل a هسته مرکزی واکنش در فتوسیستم II را تشکیل می دهد، افزایش آن می تواند بیانگر تقویت سیستم فتوسنتزی گیاه باشد (Ramirez *et al.*, 2006). بنابراین می توان استنباط کرد که کاربرد اتانول و متانول با تقویت مرکز واکنش فتوسیستم II سبب بهبود سیستم فتوسنتزی گیاه می گردد. در گیاه دارویی ریحان محلول پاشی سطوح مختلف اتانول و متانول اثر قابل توجهی در افزایش میزان رنگیزه های فتوسنتزی داشت، به طوری که رقت های ۲۰ درصد اتانول و ۲۵ درصد متانول موجب افزایش ولی کاربرد غلظت های بالاتر باعث کاهش صفت مورد نظر گردید (مقدم و همکاران، ۱۳۹۷) که در پژوهش حاضر کاربرد برگی سطوح مختلف (۵ و ۱۰ درصد) اتانول و متانول موجب افزایش معنی دار کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد گردید.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

رنگیزه کاروتنوئید عمل به دام انداختن نور در فتوسیستم‌ها را برعهده دارد و به‌عنوان یک عامل حفاظتی برای جلوگیری از تخریب کلروفیل و صدمه به سیستم فتوسنتزی گیاه در مقابل تنش‌های مختلف و مولکول‌های پراثری عمل می‌کند. به‌طور مثال کمبود آب موجب آسیب به رنگدانه‌ها و پلاستیدها می‌شود و کاهش کلروفیل، کاروتنوئید و کاهش ضخامت غشاء در تیلاکوئیدها را در پی خواهد داشت (Ramirez *et al.*, 2006). افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های کاروتنوئید در گیاه سیاهدانه تحت تیمار سطوح مختلف متانول گزارش شده است (برادران فیروزآبادی و همکاران، ۱۳۹۶). همچنین در گیاه دارویی ریحان استفاده از تیمارهای اتانول و متانول موجب افزایش میزان کاروتنوئید شده است (مقدم و همکاران، ۱۳۹۷) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

بسیاری از ترکیبات فنلی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و می‌توانند به‌طور مؤثری رادیکال‌های گروه هیدروکسیل و پروکسیل را حذف کرده و از اکسید شدن چربی‌ها ممانعت کنند (Boscaiu *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر تیمار گیاهان با هیدروالکل‌ها موجب افزایش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شد که با تحقیقات مقدم و همکاران (۱۳۹۷) در گیاه دارویی ریحان، و امرایی و همکاران (۱۳۹۶) در گیاه سویا همسو بود. افزایش میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه همیشه بهار با محلول‌پاشی متانول گزارش شده است (Yazdi Far *et al.*, 2015).

کاهش مشاهده شده در میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تیمار هیدروالکل‌ها را می‌توان به کاهش تنش‌های القا شده در طی فرآیند تنفس نوری از قبیل کاهش میزان پراکسید هیدروژن و سوپراکسید هیدروژن در برگ‌ها نسبت داد (Gout *et al.*, 2000). متانول با تبدیل به CO_2 سبب افزایش غلظت CO_2 درون سلول‌های برگ و انجام عمل فتوسنتز و ماده‌سازی می‌شود. بدین ترتیب از تشکیل سوپراکسید در کلروپلاست سلول‌های برگ جلوگیری می‌شود (Yordanov *et al.*, 2003). متانول با کاهش میزان پراکسید هیدروژن در کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نقش دارد (Simova- Stoilova *et al.*, 2008).

در تحقیق حاضر محلول‌پاشی گیاهان با سطوح مختلف اتانول و متانول موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی گردید که می‌توان علت این امر را این‌گونه توجیه کرد که کاربرد تیمارهای الکلی سبب افزایش میزان فنل کل و کاروتنوئید می‌شود و با توجه به این‌که قدرت به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد ارتباط مستقیمی با میزان فنل کل و محتوای کاروتنوئید دارد. می‌توان این‌گونه استنباط کرد که کاربرد متانول و اتانول موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خواهد شد (Qasim *et al.*, 2010). افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه همیشه بهار تحت تیمار سطوح مختلف متانول توسط یزدی‌فر و همکاران (۱۳۹۳) گزارش شده است.

پرویلین علاوه بر شرکت در تنظیم اسمزی، نقش‌های مهمی مانند حفاظت از سیستم‌های غشایی سلول، سمیت‌زدایی و تنظیم اسیدیته سیتوزول را نیز بر عهده دارد (Yordanov *et al.*, 2003). در این تحقیق تیمار گیاهان با هیدروالکل‌های اتانول و متانول باعث افزایش تجمع پرویلین در برگ‌ها شد از آنجایی‌که متانول محلول‌پاشی شده بر روی برگ توسط آنزیم متانول‌اکسیداز و با از دست دادن H^+ به فرمات (متانوئیک اسید) تبدیل می‌شود. فرمات در مرحله بعد و توسط آنزیم فرمات‌دهیدروژناز تبدیل به CO_2 و H^+ می‌شود، از

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

مجله فرایند و کارکرد گیاهی

طرف دیگر گزارش شده آنزیم پیرولین-۵ کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) در شرایط اسیدی بیشترین فعالیت را دارد به نظر می‌رسد متانول با کاهش PH در گیاه منجر به افزایش فعالیت آنزیم پیرولین-۵ کربوکسیلات سنتتاز شده و در نهایت تجمع پرولین در برگ را خواهیم داشت (Yordanov et al., 2003).

در بررسی حاضر کاربرد برگی هیدروالکل‌ها موجب افزایش میزان قند کل در برگ‌های گل‌انگستانه ارغوانی گردید که افزایش مشاهده شده در تیمار متانول و اتانول را این‌گونه می‌توان توضیح داد که متانول بعد از محلول‌پاشی متابولیزه شده و با افزایش میزان دی‌اکسیدکربن درون برگی منجر به افزایش میزان آماس و قندسازی در برگ‌ها می‌شود. طبق گزارش مقدم و همکاران (۱۳۹۷) بیشترین میزان قند کل در گیاه ریحان با کاربرد برگی متانول ۱۰ درصد مشاهده شد که با نتایج تحقیق حاضر همسو بود همچنین آن‌ها گزارش کردند که افزایش غلظت متانول باعث کاهش صفت مورد نظر گردید (مقدم و همکاران، ۱۳۹۷).

همچنین تأثیر تیمارهای اتانولی نیز در افزایش نسبت قند به اسید به اثبات رسیده است. در واقع استالدئید حاصل از اتانول، با افزایش تنفس سلولی موجب کاهش اسیدیته و افزایش درصد قند محلول می‌گردد (Pesis, 2005). همچنین کاربرد برگی متانول موجب تولید دو مولکول سرین در گیاهان تیمار شده می‌شود که این امر باعث افزایش گلوکز، فروکتوز و دو برابر شدن مقدار ساکارز می‌شود که در نتیجه‌ی آن عملکرد کل و نیز میزان قند کل افزایش پیدا می‌کند (Ramirez et al., 2006).

محتوای آب نسبی برگ‌های گل‌انگستانه ارغوانی با تیمار هیدروالکل‌ها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی متانول نقش مؤثری در افزایش رطوبت و محتوای آب نسبی برگ‌ها دارد که دلیل آن دو برابر شدن کربوهیدرات تولیدشده در برگ‌ها با کاربرد متانول است (آرمند و همکاران، ۱۳۹۴). افزایش محتوای آب نسبی برگ در گیاه لوبیا تحت تیمار سطوح مختلف متانول گزارش شده است (آرمند و همکاران، ۱۳۹۴) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

استفاده از هیدروالکل‌ها در این تحقیق موجب افزایش میزان نیتروژن برگ‌ها شد که می‌توان آن را به افزایش محتوای سیتوکینین و اکسین برگ‌ها با محلول‌پاشی الکل‌ها نسبت داد (Ramirez et al., 2006). طبق گزارشی سیتوکینین و اکسین در تنظیم پروتئین‌های غشایی که در جذب عناصر نقش دارند تغییراتی را ایجاد می‌نماید و از این طریق باعث افزایش میزان عناصر غذایی در گیاه می‌گردد (Argueso et al., 2009). مطالعاتی که بر روی گوجه‌فرنگی و چغندر قند صورت گرفت نشان داد که محلول‌پاشی متانول باعث افزایش فعالیت نیترات‌ردوکتاز به میزان ۵۰ درصد شده است (Ivanova et al., 2001). بنابر این افزایش میزان نیتروژن برگ پس از محلول‌پاشی با متانول را می‌توان به افزایش فعالیت نیترات‌ردوکتاز و آسیمیلاسیون نیتروژن نسبت داد (Abanda et al., 2006; Ivanova et al., 2001) افزایش میزان نیتروژن برگ‌ها در گیاه گوجه‌فرنگی و چغندر تحت محلول‌پاشی متانول گزارش شده است (Ivanova et al., 2001) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

به‌طور کلی با توجه به بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی با کاربرد برگی سطوح مختلف هیدروالکل‌ها، به‌نظر می‌رسد استفاده از اتانول و متانول از نظر افزایش عملکرد گیاه و نیز از لحاظ حفاظت از محیط زیست می‌تواند مفید واقع شود. از طرف دیگر با توجه به نتایج به دست آمده کاربرد متانول نسبت به اتانول افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه گل انگشتانه ارغوانی را باعث شد.

منابع

1. آرمند، نظام، امیری، حمزه و اسماعیلی، احمد (۱۳۹۴). تاثیر متانول بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا تحت تنش کمبود آب. نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۲(۳۴)، ۲۴۲-۲۳۱.
2. امامی، عاکفه. (۱۳۷۵) روش‌های تجزیه گیاه. جلد ۱، نشریه سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران.
3. برادران فیروزآبادی، مجتبی، پارسائیان، مهدیه و برادران فیروزآبادی، مهدی (۱۳۹۶). پاسخ زراعی و فیزیولوژیک سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) به محلول پاشی آسکوربات و متانول در شرایط تنش کم آبیاری، مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی (۳۰): ۹: ۲۷-۱۳. <https://sid.ir/paper/188582/fa>
4. عسگری، علی‌اکبر و معین‌فرد، عاطفه. (۱۳۹۳) بررسی تأثیر محلول‌پاشی الکل‌ها بر گیاهان به‌عنوان روشی نوین در کشاورزی. اولین کنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران، دانشگاه تهران، ایران. <https://civilica.com/doc/333038>
5. کوچکی، علی‌رضا و خواجه‌حسینی، محمد (۱۳۹۶). زراعت نوین. جهاد دانشگاهی واحد مشهد.
6. مقدم، محمد، نریمانی، رسول، رستمی، قادر و مجرب، سپیده (۱۳۹۷). بررسی اثر محلول‌پاشی اتانول و متانول بر شاخص‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* c.v. Keshkeni luvelou)، نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۲(۱۶): ۳۵۴-۳۴۵. DOI: 10.22067/gsc.v16i2.57520
7. نورافکن، حسن، کلانتری، زهرا و سفیدکن، فاطمه (۱۳۹۷). اثر محلول‌پاشی متانول و اتانول بر ترکیبات اسانس نعناع‌فلفلی. فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی، ۱۴(۲)، ۱۸-۹. DOI: 10.22034/AEJ.2018.543125
8. Abanda, D., Musch, M., Tschiersch, J., & Schawb. M. (2006). Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedling: growth promotion, methanol consumption and localization of the methanol emission site. *Journal of Experimental Botany*, 57(15), 4025-4032. DOI: 10.1093/jxb/erl173
9. Argueso, C. T., Ferreira, F. J., & Kieber, J. J. (2009). Environmental perception avenues: the interaction of cytokinin and environmental response pathways. *Plant, Cell and Environment*, 32(9) 1147-1160. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.01940.x
10. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
11. Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>
12. Benson, A. A. (1951). Identification of ribulose in C¹⁴O₂ photosynthetic products. *American Chemical Society*, 73, 2971-2972.
13. Boscaiu, M., Sanchez, M., Bautista, I., Donat, P., Lidon, A., Llinares, J., Llul, C., Mayoral, O., & Vicente, O. (2010). Phenolic compounds and stress markers in plants from gypsum habitats. *Bulletin Univ. Journal Agriculture Science*, 67(1) 44-49. <https://www.researchgate.net/publication/228346456>
14. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*. 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

15. Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
16. Dhindsa, R., Plumb-Dhindsa & T. A. Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(126), 93-101. <https://www.jstor.org/stable/23689973>
17. Galmés, J., Flexas, J. Savé, R., & Medrano, H. (2007). Water relations and stomatal characteristics of mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil*, 290(1), 139-155. DOI:10.1007/s11104-006-9148-6
18. Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., & Nonomura, A. R. (2000). Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Plant Physiology*, 123(1), 287-296. doi: 10.1104/pp.123.1.287
19. Haakana, K., Saerckae, L., & Somersalo, S., (2001) .Gaseous ethanol penetration of plant tissues positively effects the growth and commercial quality of miniature roses and dill. *Scientia Horticulturae*. 88(2001), 71-84. PII: S0304- 4238(00)00188-6
20. Hoagland, D. R. & Arnon, D. J. (1950) The water culture method for growing plants without soil. 2nd Ed. California Agricultural Experimental Station, Berkeley.
21. Ivanova, E.G., Dornina, N. V., & Trotsenko, Y. A. (2001). Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. *Microbiologiia*, 70(4), 452-458. PMID: 11558269
22. Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of physiological methods. *Physiological and biochemical methods*, 95-97.
23. Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.10.006
24. Newman, R., Yang, P. & Pawlus, A. (2008). Cardiac glycosides as novel cancer therapeutic agents. *Molecular Interventions*, 8(1), 36-49. DOI: 10.1124/mi.8.1.8
25. Pesis, E. (2005.) The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. *Postharvest Biology and Technology*, 37(1), 1-19. DOI:10.1016/j.postharvbio.2005.03.001
26. Qasim, A., Ashraff, M., & Anwar, F. (2010). Seed composition and seed oil antioxidant activity of maize under water stress. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(10), 1179-1187. DOI:10.1007/s11746-010-1599-5
27. Ramirez, I., Doreta, F., Espinoza, V., Jimenez, E., Mercado, A., & Pen a-Cortes, H. (2006). Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco, and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25(1), 30-44. DOI:10.1007/s00344-005-0027-9
28. Richter, E. (2006). The effect of CO₂ and temperature on sugar beet. *Defra final project report*. 6:143- 159.
29. Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046. DOI:10.1016/S0168-9452(02)00278-9
30. Simova-Stoilova, L., Demirevska, K., Petrova, T., Tsenov, N., & Feller, U. (2008). Antioxidative protection in wheat varieties under severe recoverable drought at seedling stage. *Plant, Soil and Environment*, 54(12), 529-536. DOI:10.17221/427-PSE
31. Xiao-Tang, J., Feng-Chun, C., Chun-Gian, L., Rong-Feng, J., Christie, P., & Fu-Suo, Z. (2008). Yield and nicotine content of flue cured tobacco as affected by soil nitrogen mineralization Pedosphere. *Field Crops Research*, 18(2), 227-235. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60011-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60011-9)
32. Yavarpanah, Z., Alizadeh, M., & Seifi, E. (2015). Effects of foliar and root applications of hydro-alcoholic solutions on physiological and biochemical attributes and fruit yield and weight of strawberry. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 5(1) 47-54. ISSN: 2008-5168
33. Yazdi Far, S., Moradi, P., & Yousefi Rad, M. (2015). Effect of foliar application of methanol and chelated zinc onthe quantities and qualities yield of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 4(12): 170-176. ISSN: 2090-4274
34. Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. (2003). Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgharestan. *Journal of Plant Physiology*, 2(21), 187-206. DOI: 10.1023/A:1007201411474

35. Zbiec, I., Karczmarcyk, S., & Podsiad, C. (2003). Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 6,1- 7. <http://www.ejpau.media.pl/volume6/issue1/agronomy/art-01.html>

پس انتشار