فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۰، خرداد و تیرماه ۱۴۰۳ صفحه: ۳۶۷-۳۸۲
https://doi.org/10.22034/13.60.367

مقاله پژوهشی

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

افسون رضایی علولو[۱]، محسن ثانی‌خانی*[۱]، عزیزاله خیری[۱] و ملیحه یعقوبی[۲]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲] گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی سطوح مختلف اتانول و متانول بر شاخص‌های بیوشیمیایی گل انگشتانه ارغوانی (*Digitalis purpurea* L.) آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه 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 (آب‌مقطر) بود. نتایج آزمایش نشان داد که حداکثر مقدار کلروفیل کل (۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم)، کاروتنوئیدکل (۰/۰۶۵ میلی‌گرم بر گرم)، فنل کل (۱۵/۳۵ میلی‌گرم بر گرم)، فلاونوئید کل (۲/۵۸ میلی‌گرم بر گرم) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۳/۷۶ درصد) تحت تیمار متانول ۱۰ درصد به‌دست آمد. بیشترین میزان پرولین (۴/۴۷ میلی‌گرم)، قند محلول (۷۶/۲۰ میلی‌گرم بر گرم)، 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 میلی‌گرم بر گرم پروتئین) و آنزیم پراکسیداز (۰/۳۴ میلی‌گرم بر گرم پروتئین) با محلول‌پاشی متانول ۱۰ درصد کاهش نشان دادند با توجه به نتایج به‌دست آمده، کاربرد سطوح مختلف هیدروالکل‌ها، جهت بهبود خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی پیشنهاد می‌شود.

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

مقدمه

گل انگشتانه ارغوانی (*Digitalis Purpurea* L.) متعلق به خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) بوده که به‌علت شکل خاص گل‌هایش دستکش روباه (foxglove) نامیده می‌شود. جنس *Digitalis* از این تیره به ۲۰-۱۲ گونه تقسیم می‌شود و گونه‌های مختلف این جنس عموما یک‌ساله و علفی و گاهی درختچه‌های چند ساله هستند. برگ‌های گونه‌های مختلف این جنس، حاوی ترکیبات گلیکوزیدی قلبی (کاردنولید) هستند که تاکنون ۲۳ نوع مختلف آن در عصاره‌های حاصل از گونه *D. purpurea* شناخته شده است. در میان ترکیبات گلیکوزیدی حاصل از این گیاهان، دیگوکسین و دیجیتوکسین هنوز هم به‌عنوان داروهای مفید در درمان نارسایی‌های قلبی استفاده می‌شود (Newman *et al*., 2008).

با توجه به آسیب‌های جدی که در دهه‌های گذشته به واسطه استفاده بی‌رویه از نهاده‌های شیمیایی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای بالابردن تولید محصولات کشاورزی، به

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: sani@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

محیط‌زیست و سلامت انسان‌ها وارد شده است، در سال‌های اخیر نوعی تجدیدنظر در مورد مصرف کودها و سم‌های شیمیایی که یکی از دستاوردهای کشاورزی رایج است در جریان است. در نتیجه تلاش برای بالابردن تولید زیست‌توده و ماده مؤثره آن‌ها بدون کاربرد نهاده‌های شیمیایی و استفاده از ترکیبات غیرشیمیایی با اثرات سوء کمتر به‌عنوان جایگزین مورد نیاز است (کوچکی و خواجه‌حسینی، ۱۳۹۶).

یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای رساندن مواد غذایی و عناصر مورد نیاز گیاه، محلول‌پاشی یا تغذیه از طریق برگ است که به‌دلیل سرعت جذب بالا از طریق اندام‌های هوایی در فاصله زمانی کوتاه‌تری می‌توان به نتیجه مطلوب دست یافت و نیاز غذایی گیاه را تأمین 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 (C_2H_5OH) ساده‌ترین نوع الکل‌ها هستند 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 دی‌اکسید کربن تبدیل می‌شود (Haakana *et al.*, 2001; Yavarpanah *et al.*, 2015). متانول، اتانول و سایر الکل‌ها به‌صورت غیرفعال و از طریق انتشار ساده از غشاء سلولی جذب سلول‌های گیاه می‌شوند و سرعت جذب آن‌ها به‌طور مستقیم به غلظت آن‌ها بستگی دارد. پس از محلول‌پاشی الکل‌ها روی گیاه بدون توجه به محل تیمارکردن 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 برابرشدن غلظت دی‌اکسید کربن سبب افزایش خطی کارآیی 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 به‌علت افزایش غلظت در دی‌اکسید کربن در برگ‌ها و استفاده از متانول به‌عنوان یک منبع مستقیم برای سنتز اسیدآمینه سرین و یا کاهش هدررفت کربن از طریق تنفس نوری است (Richter, 2006). در اثر محلول‌پاشی متانول، دی‌اکسید کربن از اکسیداسیون سریع متانول بر روی گیاه به‌دست می‌آید و می‌تواند با موفقیت در جذب توسط رابیسکو 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 مرحله رشد است. همچنین متانول باعث بیشترشدن 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 توت‌فرنگی (*Fragaria× ananasa* cv. Gaviota) به‌صورت 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 براساس گزارش Yazdi Far و همکاران (۲۰۱۵) محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول منجر به افزایش معنی‌دار میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه همیشه‌بهار شد.

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 اثر نوع و غلظت هیدروالکل‌های مذکور بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی گل انگشتانه ارغوانی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

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

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 به‌همراه 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.

تیمارهای آزمایش شامل دو سطح اتانول (۵ و ۱۰ درصد) و دو سطح متانول (۵ و ۱۰ درصد) به‌همراه تیمار شاهد (آب مقطر) بودند. بذرهای گل انگشتانه ارغوانی (شرکت پاکان بذر) قبل از کشت با هیپوکلریت سدیم یک درصد به‌مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سپس چندین مرحله با آب‌مقطر شستشو داده شدند. بذرها ابتدا در سینی نشا حاوی کوکوپیت و پیت‌ماس در اوایل آبان ماه سال ۹۹ کشت شدند. سپس در اوایل بهمن‌ماه و در مرحله چهار برگی سه 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 ۱:۱:۳) بود. میانگین دمای روز و شب گلخانه در طول دوره آزمایش به‌ترتیب 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 شد. بعد از انتقال نشاها به گلدان‌ها و استقرار کامل آن‌ها در اواخر خردادماه محلول‌پاشی با تیمارهای مذکور شروع شده و چهار مرتبه به‌صورت 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 Arnon (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 سانتریفیوژکردن با دور ۵۰۰۰ به‌مدت ده دقیقه مقدار جذب در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۵۱۰ و ۴۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (RS 232) SAFAS MONACO خوانده شد و در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به‌دست آورده شد. در این رابطه (V) حجم نهایی عصاره، (A) جذب نور در طول‌موج‌های مشخص، (W) وزن تر نمونه برحسب گرم است.

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

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

سنجش میزان فنل کل: میزان فنل کل براساس روش فولین سیوکالتو با استفاده از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد به روش Meda و همکاران (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره صاف‌شده ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد، ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو ۵۰ درصد اضافه شد و نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگه‌داری شدند. میزان جذب در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. با قراردادن 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم با استفاده از کوئرسیتین 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 صاف‌شده ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر اضافه و مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگه‌داری شد. میزان جذب نوری در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. با قراردادن 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 پلی‌وینیل پیرولیدین (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 درجه‌سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: 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. طول‌موج اسپکتوفتومتر بر روی طول‌موج 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 به‌مدت یک دقیقه خوانده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب جذب آب اکسیژنه در طول‌موج 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 شد. دستگاه اسپکتروفتومتری روی طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه با فاصله زمانی ۲۰ ثانیه تنظیم گردید. سپس ۱۵ میکرولیتر عصاره به مخلوط اضافه و بلافاصله تغییرات جذب نور خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌صورت تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد (Dhindsa *et al.*, 1981).

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدنی 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 است. ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH تهیه و سپس ۱/۵ میلی‌لیتر عصاره به همراه ۱/۵ میلی‌لیتر از DPPH به لوله آزمایش ریخته و جذب آن بعد از ۳۰ دقیقه قرارگرفتن در اتاق تاریک، در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (Brand-Williams *et al.*, 1995).

DPPH = (Ac-As) /Ac×100 درصد مهار رادیکال

Ac: میزان جذب برای نمونه شاهد مثبت، As: میزان جذب نمونه گیاهی

سنجش پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا ۰/۵ گرم از برگ توزین‌شده در هاون چینی در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ به خوبی ساییده شده و مخلوط هموژنیزه شده در دستگاه سانتریفوژ به‌مدت پنج دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول شناور را به فالکون منتقل نموده و سپس ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بلافاصله پس از خارج‌کردن از حمام آب به‌مدت چند دقیقه در حمام یخ قرار گرفتند. سپس به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه تکان داده شدند تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس لوله‌ها برای مدتی در محیط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

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 جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bates *et al.*,1973).

میلی‌گرم پرولین بر گرم وزن تر= [(میلی‌گرم پرولین بر میلی‌لیتر)× ((۰/۵گرم نمونه) + (۱۱۵/۱۳ میلی‌لیتر تولوئن))]

سنجش قند محلول: سنجش قند محلول برگ به روش Kochert (۱۹۸۷) انجام شد. بدین صورت که ۰/۱ گرم از نمونه‌ها در۱۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد به‌مدت یک هفته قرار داده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و به آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و پس از نیم‌ساعت جذب آن‌ها در طول‌موج ۴۸۵ نانومتر به وسیله اسپکتوفتومتر خوانده شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز و تعیین میزان قند برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک نمونه‌ها محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای آب نسبی: برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ، برگ کاملاً توسعه‌یافته به چند قسمت تقسیم شد و پس از توزین تکه‌های برگ به کمک ترازوی دیجیتالی وزن تر آن‌ها محاسبه شد. سپس آن‌ها به پتری‌دیش‌های درب دار حاوی آب‌مقطر منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار داده شدند. پس از خارج‌کردن برگ‌ها ار آب‌مقطر رطوبت اضافی سطح آن‌ها توسط دستمال کاغذی خشک شده و سپس برای به‌دست آوردن وزن آماس آن‌ها دوباره وزن شدند. پس از تعیین وزن آماس، قطعات برگی به آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند و پس از ۴۸ ساعت وزن خشک آن‌ها تعیین شد. در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر به‌صورت درصد محاسبه شد (Galmes *et al.*, 2007).

RWC = [(وزن خشک – وزن تر)/ (وزن خشک – وزن تورژسانس)] × ۱۰۰

اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا: به‌منظور اندازه‌گیری شاخص پایداری غشای سلول، ۱ گرم برگ با آب‌مقطر شسته شده و در لوله‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر قرار داده شدند. لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سردشدن با دستگاه هدایت‌سنج خوانده شد (EC_1) سپس لوله‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سردشدن خوانده شد (EC_2). شاخص پایداری غشای سلولی با استفاده از رابطه زیر به صورت درصد محاسبه شد (Sairam *et al.*, 2002).

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

EC_1= هدایت الکتریکی پس از قرارگرفتن در معرض دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد

EC_2= هدایت الکتریکی پس از قرارگرفتن در معرض دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

تعیین میزان نیتروژن با استفاده از دستگاه کجلدال: برای اندازه‌گیری نیتروژن از روش امامی (۱۳۷۵) استفاده شد. این آزمایش در چهار مرحله آماده‌کردن نمونه، هضم نمونه، تقطیر و مرحله تیترکردن 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 اسید سولفوریک غلیظ (۹۶ درصد) و ۳ گرم کاتالیزور سلنیوم سولفات (۹۶۰ گرم سولفات پتاسم، ۱۰ گرم دی‌اکسید سلنیوم، ۴۰ گرم سولفات مس) به نمونه‌ها اضافه و زمان دستگاه روی ۱۵۰ دقیقه و درجه حرارت دستگاه روی ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در مرحله سردشدن نمونه‌ها و رسیدن درجه حرارت آن‌ها به درجه حرارت محیط آزمایشگاه، ارلن داخل دستگاه تقطیر قرار گرفت و پس از ۱۵ دقیقه محلول تقطیرشده داخل ارلن جمع شده و آماده تیتراسیون شد و با اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال آرام و قطره قطره تیتراسیون انجام گرفت. اضافه‌کردن اسید کلریدریک به محلول تا جایی ادامه پیدا کرد که رنگ محلول ثابت و نمونه به رنگ بنفش در آمد. در نهایت میزان نیتروژن با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

درصد نیتروژن = (۰/۰۰۱۴ × V) /P) × ۱۰۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

P= وزن نمونه برحسب گرم، V= حجم اسید کلریدریک مصرفی در مرحله تیتراسیون برحسب میلی‌لیتر

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه 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).

کلروفیل کل: براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد برگی سطوح مختلف هیدروالکل‌ها بر میزان کلروفیل کل تأثیر مثبت نشان داد، به‌طوری‌که حداکثر مقدار کلروفیل کل (۱/۷۸ میلی‌گرم بر گرم) با کاربرد متانول ۱۰ درصد به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد (۱/۰۱ میلی‌گرم بر گرم) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (شکل ۱).

کاروتنوئید کل: بررسی داده‌های حاصل نشان داد که میزان کاروتنوئید کل (۰/۰۶ میلی‌گرم بر گرم) با محلول‌پاشی متانول ۱۰ درصد افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (۰/۰۲ میلی‌گرم بر گرم) نشان داد (شکل ۲).

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

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

براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، محلول‌پاشی گیاهان با هیدروالکل‌ها موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد. حداقل میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار متانول ۱۰ درصد به‌دست آمد که نسبت به بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ولی نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان داد (شکل ۵).

براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد برگی سطوح مختلف اتانول و متانول در گیاهان تیمارشده موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید. حداقل مقدار آن در تیمار ۱۰ درصد متانول و حداکثر مقدار آن در تیمار شاهد بدون محلول‌پاشی هیدروالکل مشاهده شد (شکل ۶).

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).

میزان پرولین در گیاهان محلول‌پاشی‌شده با سطوح مختلف اتانول و متانول نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد به‌طوری‌که 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 محلول‌پاشی) مشاهده شد (شکل ۸).

طبق نتایج به‌دست آمده محلول‌پاشی گیاهان با هیدروالکل‌ها باعث افزایش معنی‌دار درصد قند محلول برگ‌ها شد (شکل ۹).

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

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

براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها استفاده از سطوح مختلف الکل‌ها به‌صورت محلول‌پاشی موجب افزایش میزان نیتروژن برگ‌ها شد و حداکثر مقدار نیتروژن با محلول‌پاشی متانول ۱۰ درصد حاصل شد (شکل ۱۲).

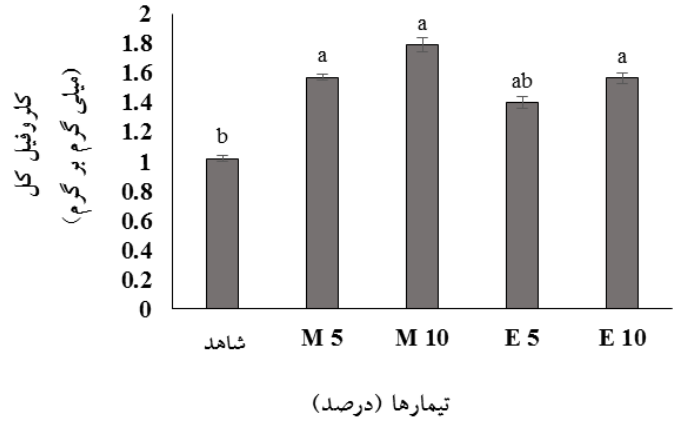
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

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

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کلروفیل	کارتنوئید	فنل	فلاونوئید	پرولین	قند
تیمار	۴	۰/۲۴۶۰*	۰/۰۰۲۶*	۱۲/۹۶۱۸*	۱/۶۰۴۹*	۱/۷۶۰۱*	۲۱۸/۸۲۹۷*
خطا	۱۰	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۰۸	۰/۰۵۹۰	۰/۰۰۱۴	۰/۰۳۸۱	۰/۰۲۱۱
ضریب تغییرات (٪)		۴/۰۷۱۸	۵/۶۹۰۵	۱/۹۳۹۸	۲/۳۱۳۶	۵/۵۳۱۲	۰/۲۰۵۶

ادامه جدول ۲-

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کاتالاز	پراکسیداز	ظرفیت	نیتروژن	محتوای نسبی آب	نشت یونی
تیمار	۴	۱/۲۱۷۶*	۱/۰۸۲۷*	۲۵۸/۴۴۰۶*	۰/۰۳۰۰*	۲۸/۹۲۵۴*	۲۰/۷۳۶۶*
خطا	۱۰	۰/۱۰۳۴	۰/۰۰۹۱	۵/۴۹۵۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۹۵۹*	۰/۰۴۴۳
ضریب تغییرات (٪)		۱۵/۴۸۰۵	۹/۷۸۹۶	۲/۳۰۴۷	۰/۶۷۲۹	۰/۴۳۰۴	۱/۱۸۵۵



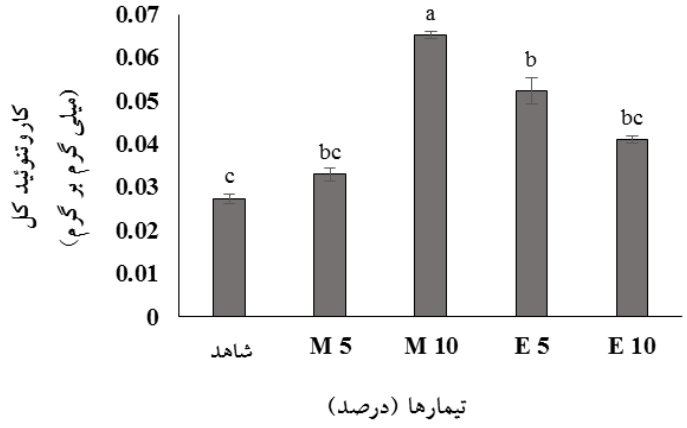
شکل ۱- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان کلروفیل کل. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

بحث

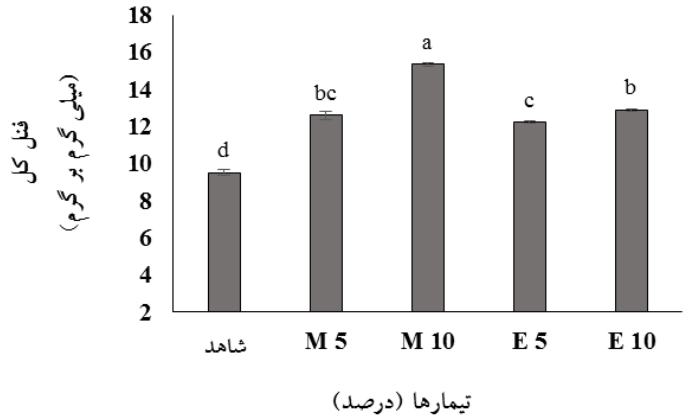
یکی از عوامل مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی برگ، محتوای کلروفیل برگ می‌باشد که در پژوهش‌های مختلف همبستگی مثبتی بین میزان فتوسنتز برگ و محتوای کلروفیل آن گزارش شده است. از سوی دیگر تشکیل کلروفیل در حضور نور نیازمند هورمون سیتوکینین است که الکل‌ها با افزایش محتوای سیتوکینین گیاه موجب افزایش تشکیل کلروفیل و کاروتنوئید می‌شوند (Ramirez *et al.*, 2006). متانول و اتانول با اکسیداسیون سریع به دی‌اکسید کربن در برگ‌ها نقطه جبران دی‌اکسید کربن را افزایش می‌دهند. همچنین با افزایش فشار آماس، درصد قند و تورم سلول به توسعه برگ‌ها، افزایش کلروفیل و محتوای کاروتنوئید کل کمک می‌کنند (Zbiec and Podsiad, 2003).

با توجه به این‌که کلروفیل a هسته مرکزی واکنش در فتوسیستم II را تشکیل می‌دهد، افزایش آن می‌تواند بیانگر تقویت سیستم فتوسنتزی گیاه باشد (Ramirez *et al.*, 2006). بنابراین می‌توان استنباط کرد که کاربرد اتانول و متانول با تقویت مرکز واکنش فتوسیستم II سبب بهبود سیستم

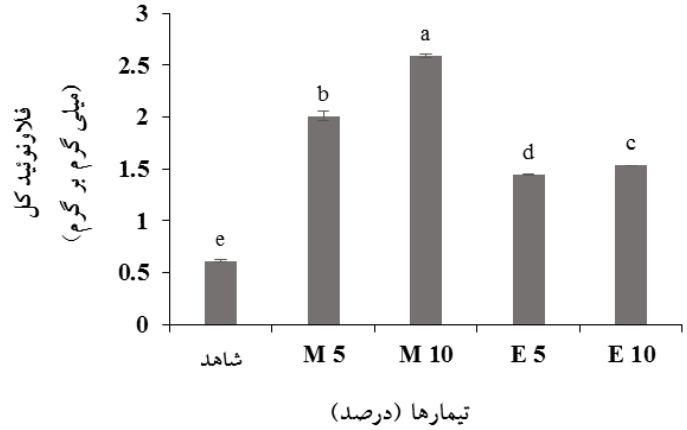
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]



شکل ۲- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان کاروتنوئید کل. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

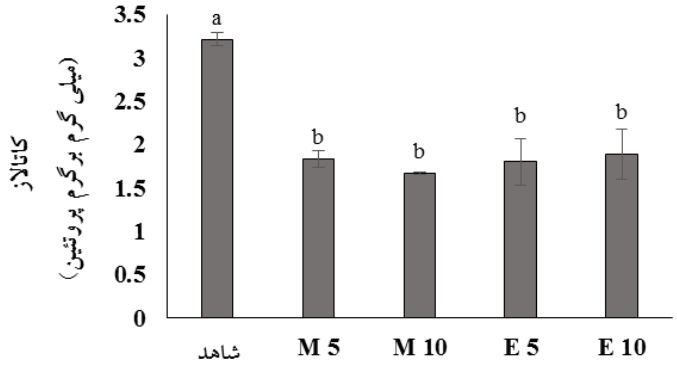


شکل ۳- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فنل کل. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

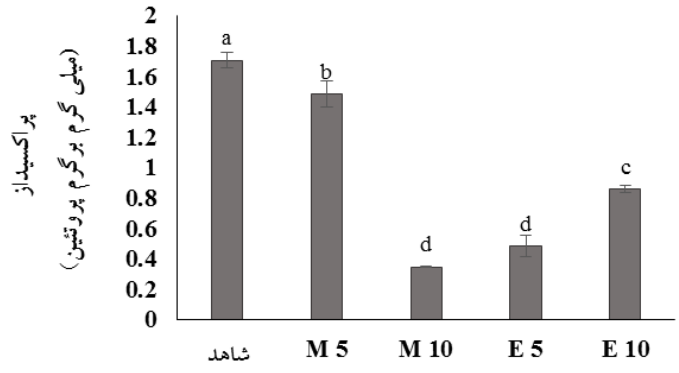


شکل ۴- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فلاونوئید کل. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

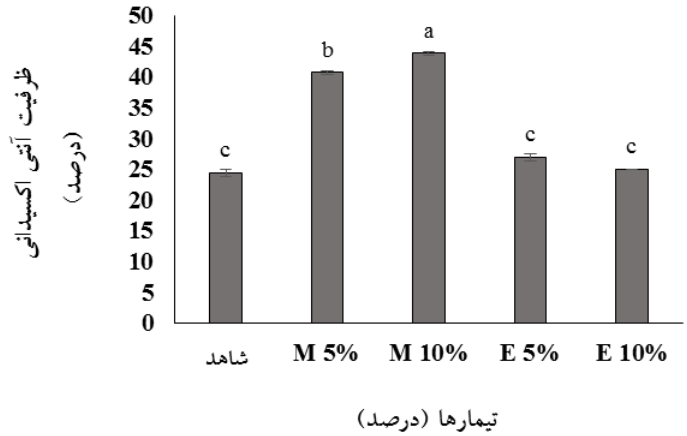
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]



شکل ۵- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

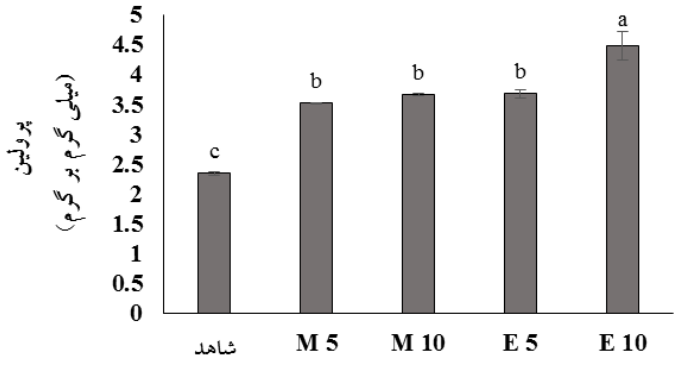


شکل ۶- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

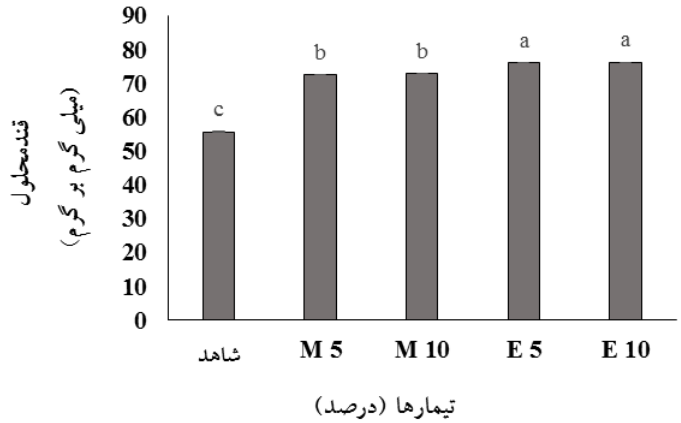


شکل ۷- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان فعالیت آنتی¬اکسیدانی. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

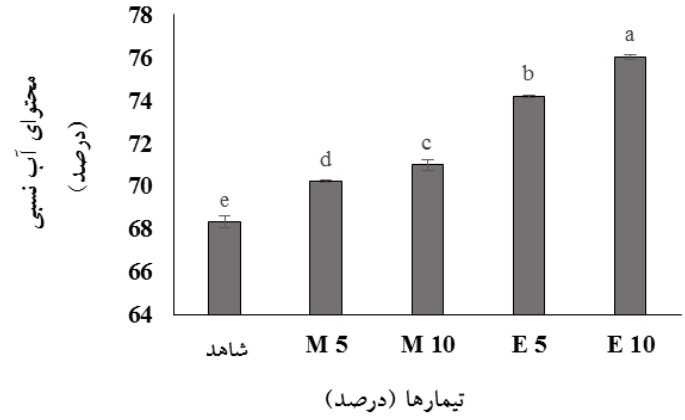
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]



شکل ۸- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان پرولین. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

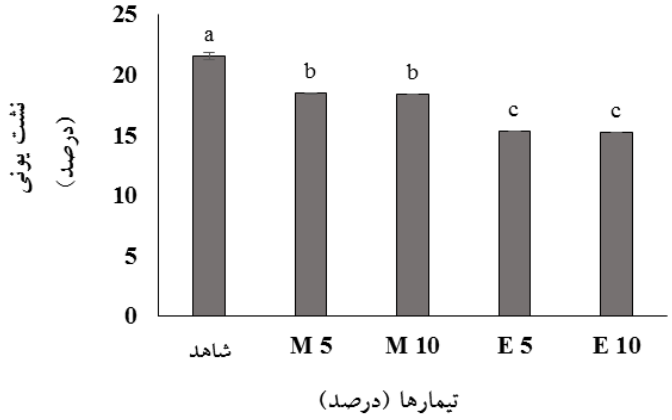


شکل ۹- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان قند محلول. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

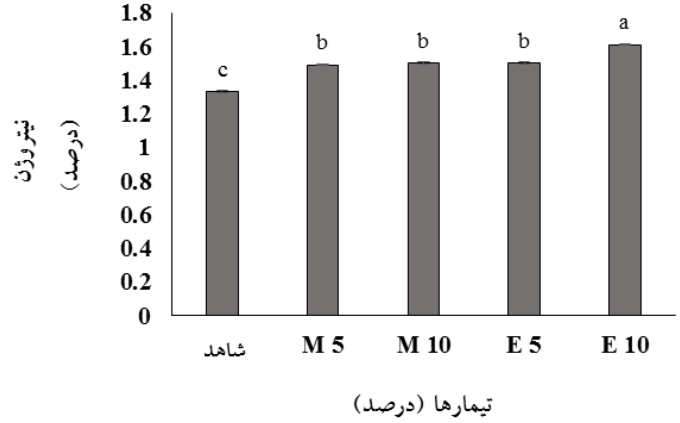


شکل ۱۰- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان محتوای آب نسبی. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]



شکل ۱۱- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان نشت یونی. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.



شکل ۱۲- اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی، متانول (M) و اتانول (E)، بر میزان نیتروژن برگ. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

فتوسنتزی گیاه می‌گردد. در گیاه دارویی ریحان محلول‌پاشی سطوح مختلف اتانول و متانول اثر قابل‌توجهی در افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت، به‌طوری‌که رقت‌های ۲۰ درصد اتانول و ۲۵ درصد متانول موجب افزایش ولی کاربرد غلظت‌های بالاتر باعث کاهش صفت مورد نظر شد (مقدم و همکاران، ۱۳۹۷) که در پژوهش حاضر کاربرد برگی سطوح مختلف (۵ و ۱۰ درصد) اتانول و متانول موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد شد.

رنگیزه کاروتنوئید عمل به‌دام 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 پر انرژی 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)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

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 اکسیدشدن 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 همیشه‌بهار با محلول‌پاشی متانول گزارش شده است (Yazdi Far *et al*., 2015).

کاهش مشاهده‌شده در میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تیمار هیدروالکل‌ها را می‌توان به کاهش تنش‌های القاشده 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 برگی و انجام عمل فتوسنتز و ماده‌سازی می‌شود. بدین ترتیب از تشکیل سوپراکسید در کلروپلاست سلول‌های برگی 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 شد 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). همچنین افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه همیشه‌بهار تحت تیمار سطوح مختلف متانول توسط Yazdi Far و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شده است.

پرولین 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 پرولین در برگ‌ها شد از آن جایی که متانول محلول‌پاشی‌شده بر روی برگ توسط آنزیم متانول اکسیداز و با از دست‌دادن H^{2+} به فرمات (متانوئیک اسید) تبدیل می‌شود. فرمات درمرحله بعد و توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به CO_2 و H^+ می‌شود، از طرف دیگر گزارش شده آنزیم پیرولین- ۵ کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) در شرایط اسیدی بیشترین فعالیت را دارد به‌نظر 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 گل انگشتانه ارغوانی شد 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 دی‌اکسید کربن 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 برابرشدن مقدار ساکارز می‌شود که در نتیجه آن عملکرد کل و نیز میزان قند کل افزایش پیدا می‌کند (Ramirez *et al*., 2006).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

محتوای آب نسبی برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی با تیمار هیدروالکل‌ها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی متانول نقش مؤثری در افزایش رطوبت و محتوای آب نسبی برگ‌ها دارد که دلیل آن دو برابرشدن 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 چغندرقند صورت گرفت نشان داد که محلول‌پاشی متانول باعث افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز به میزان ۵۰ درصد شده است (Ivanova *et al*., 2001). بنابراین افزایش میزان نیتروژن برگ پس از محلول‌پاشی با متانول را می‌توان به افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز و آسیمیلاسیون نیتروژن نسبت داد (Abanda *et al*., 2006; Ivanova *et al*., 2001). افزایش میزان نیتروزن برگ‌ها در گیاه گوجه‌فرنگی و چغندر تحت محلول‌پاشی متانول گزارش شده است (Ivanova *et al*., 2001) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی 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 محیط‌زیست می‌تواند مفید واقع شود. از طرف دیگر با توجه به نتایج به دست آمده کاربرد متانول نسبت به اتانول افزایش قابل ملاحظه‌ای در بهبود خصوصیات بیوشیمایی گیاه گل انگشتانه ارغوانی را باعث شد.

منابع

آرمند، نظام، امیری، حمزه، و اسماعیلی، احمد (۱۳۹۴). تأثیر متانول بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا تحت تنش کمبود آب. *نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی*، (۳۴)۲، ۲۴۲-۲۳۱.

امامی، عاکفه (۱۳۷۵). روش‌های تجزیه گیاه. جلد ۱، نشریه سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران.

امرایی، بهزاد، پاک‌نژاد، فرزاد، ابراهیمی، محمد علی، و سبحانیان، حمید (۱۳۹۶). اثر محلول‌پاشی متانول و تنش خشکی بر عملکرد دانه و شاخص‌های رشد سویا (*Glycine max* L.). *نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی*، (۳۴)۹، ۱۲۹-۱۱۱.

برادران‌فیروزآبادی، مجتبی، پارسائیان، مهدیه و برادران‌فیروزآبادی، مهدی (۱۳۹۶). پاسخ زراعی و فیزیولوژیک سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) به محلول‌پاشی آسکوربات و متانول در شرایط تنش کم آبیاری. *مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی*، (۳۰)۹، ۱۳-۲۷. https://sid.ir/paper/188582/fa

عسگری، علی‌اکبر، و معین‌فرد، عاطفه (۱۳۹۳). بررسی تأثیر محلول‌پاشی الکل‌ها بر گیاهان به‌عنوان روشی نوین درکشاورزی. اولین کنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران، دانشگاه تهران، ایران. https://civilica.com/doc/333038

کوچکی، علیرضا، و خواجه‌حسینی، محمد (۱۳۹۶). زراعت نوین. جهاد دانشگاهی واحد مشهد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

مقدم، محمد، نریمانی، رسول، رستمی، قادر، و مجرب، سپیده (۱۳۹۷). بررسی اثرمحلول‌پاشی اتانول و متانول برشاخص‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* c.v. Keshkeni luvelou). *نشریه پژوهش‌های زراعی ایران*، ۲(۱۶)، ۳۴۵-۳۵۴. DOI: 10.22067/gsc.v16i2.57520

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

Abanda, D., Musch, M., Tschiersch, J., & Schawb, M. (2006). Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedling: Growth promotion, methanol consumptionand localization of the methanol emission site. *Journal of Experimental Botany*, *57*(15), 4025-4032. DOI: 10.1093/jxb/erl173

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

Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*, 112-121.

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

Benson, A. A. (1951). Identification of ribulose in $C^{14}O_2$ photosynthetic products. *American Chemical Society*, *73*, 2971-2972.

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 University *Journal Agriculture Science*, *67*(1), 44-49. https://www.researchgate.net/publication/228346456

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

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

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

Galmes, J., Flexas, J., Save, 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

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

Haakana, K., Saerkkae, 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

Hoagland, D. R. & Arnon, D. J. (1950). The Water Culture Method for Growing Plants without Soil. 2nd Ed. California Agricultural Experimental Station, Berkeley.

Ivanova, E.G., Dornina, N. V., & Trotsenko, Y. A. (2001). Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. *Microbiologiia*, *70*(4), 452-458. PMID: 11558269

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of phycological methods. *Phycological and Biochemical Methods*, 95-97.

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

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

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

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

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

Richter, E. (2006). The effect of CO_2 and temperature on sugar beet. *Defra Final Project Report*, *6*, 143-159.

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

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

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

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

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

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

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]

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

Afsoon Rezaie Allolo[1], Mohsen Sanikhani[1*], Azizollah Kheiry[1], Maliheh Yaghoobi[2]

[1] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2] Department of Engineering, Faculty of Chemical Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran
(Received: 2023/06/23, Accepted: 2023/11/13)

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), 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), relative water content (76.02%) and leaf nitrogen (1.61%) 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

Corresponding author, Email: sani@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-06-30]