Archive of SID

اثر اتانول بر روی جوانه‌زنی و برخی ساختارهای تشریحی گیاه *Phaseolous vulgaris L.* از تیره نخود

آمنه جمشیدی*

چکیده

اثر غلظتهای مختلف اتانول بر روی جوانه‌زدن بذر و ساختار تشریحی برگها و ساقه *Phaseolous vulgaris* آزمایش شد. نتایج نشان می‌داد که غلظت بالای اتانول جوانه‌زدن دانه‌ها را کاهش می‌دهد. فرکانس روزنه‌ای، شاخص روزنه‌ای، و طول و عرض سلولها پس از اسپری برگها با آب و هفت غلظت مختلف از اتانول اندازه‌گیری شد. بلندترین طول سلولهای اپیدرمی سطح رویی برگ در تیمار با اتانول ۱۰٪ دیده می‌شود. همچنین بیشترین میزان شاخص روزنه‌ای رو و زیر سطح برگ در تیمار با اتانول ۸۰٪ مشاهده می‌شود. افزودن اتانول، فرکانس و طول کرکهای روی سطح برگ، را کاهش می‌دهد، اما اثر چشمگیری بر طول آوندهای چوبی جوان ندارد.

کلید واژه

اتانول، *Phaseolous vulgaris* ، ساختار تشریحی، طول کرک، فرکانس روزنه، شاخص روزنه.

مقدمه

آزمایشهای زیادی روی اثرات الکل بر میکروبها و بررسی میکروبهای مقاوم به اتانول یا از بین‌رونده توسط اتانول انجام گرفته، ولی در گیاهان تحقیقات بیشتر بر روی اثر عوامل مختلف بر روی افزایش میزان اتانول از گیاهان تولیدکننده اتانول می‌باشد **(۲۳)**. در مواردی نیز به اسپری برگهای گیاهان با اتانول و ترکیبات دیگر پرداخته شده است ولی نشان داده شده که اسپری برگهای کلم با اتانول ۵٪ و لیمونن ۳٪ در اتانول ۵٪ اثری بر روی لاروهای پتولاگزیلوستلا[1] ندارد **(۱۲)**.

در بعضی تحقیقات نیز پاسخ فیزیولوژیکی افزایش عمر گلدانی گلهای میخک چیده شده‌ای که با اتانول و استالدئید تیمار شده‌اند را با اندازه‌گیری حجم کلروفیل و کربوهیدراتها تعیین نموده‌اند **(۱۹)**.

* عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور، مرکز تهران

1. *Plutella xylostella*

www.SID.ir

Archive of SID

در تحقیق دیگری این پاسخ افزایش عمر را با اندازه‌گیری مقدار پروتئین و فعالیت آنزیمی تعیین نموده‌اند. تحقیقی دیگر بر روی سلولهای توتون رقم BY_2 صورت گرفته شد که در آن وقتی این سلولها به مدت ۸ ساعت با ۱ میکرومتر اتانول ۵۰٪ در محیط کشت تیمارشدند، نسبت میانگین میزان رشد ۸ ساعت بعد از تیمار به میانگین رشد ۸ ساعت قبل از تیمار برای اتانول h ۱/۹۶٪ با SE=٪۲۲ بوده است **(۷)**.

درخصوص اثر اتانول یا ترکیباتی از اتانول بر روی ریشه نیز تحقیقاتی صورت گرفته است. برای مثال پاکلوبر ترازول (ترکیبی از اتانول)، بیوماس ریشه را در گیاه آگروستیس پالوستریس هادز[2] کاهش می‌دهد **(۱۰)**، یا افزایش اتانول پیام‌رسانی از ریشه به جوانه‌ها را در گوجه‌فرنگی دچار اشکال می‌سازد **(۱۳)**. البته چون گاز اتانول و بعضی الکلهای دیگر آلودگیهای اولیه‌ای هستند که در ایستگاه فضایی بین‌المللی وجود دارند بررسی اثر گاز اتانول بر رشد ونمو گیاه تربچه به‌عنوان یک نوع سبزی سالاد و منبع غذایی برای فضانوردان طی مأموریتهای فضایی اهمیت دارد. به همین دلیل اثرات اتانول بر رشد و نمو چند رقم تربچه بررسی شده است **(۱۵)**.

Heins (۱۹۸۰) گزارش کرد که استفاده از تیمار اتانول ۲٪ موجب کاهش پیری در گلهای میخک می‌شود. او بیان داشت که اتانول بیوسنتز اتیلن را مهار کرده و باعث تأخیر پیری در گلهای میخک می‌شود **(۱۱)**. همچنین Wu و همکارانش (۱۹۹۲) گزارش کردند که تیمار پیوسته با اتانول ۸٪ طول عمر گلهای میخک سفید را دو برابر می‌کند. اتانول باعث می‌شود که مقدار بسیار کمی اتیلن سنتز شود و حساسیت گلها به اتیلن خارجی نیز کاهش یابد **(۲٤)**.

Mecarelli (۱۹۹۱) شاخه‌های رأس کوچک گل کاغذی را همراه با برگهای رنگی و گلهای سفید همراه آن را در محلولهای اتانولی قرار داد و مشاهده نمود که ریزش گلها در تیمارهای الکلی به میزان ۸۰ ـ ۶۰ درصد از ریزش گلهای تیمارنشده کمتر می‌باشد. او بیان کرد که شاید اتانول برای اشغال کردن گیرنده‌های اتیلنی با اتیلن رقابت کرده و پیری را به تأخیر می‌اندازد **(۱۸)**. Joshi و همکاران (۱۹۹۵) متانول و نیترات را در سطح برگ سویا اضافه کردند و افزایش عملکرد بر اثر اعمال تیمار الکل، تیمار نیتروژن و اثر متقابل آن دو را در سویا مشاهده نمودند **(۱٤)**.

Mc David (۱۹۹۵) متانول ۱۵ درصد را بر روی برگهای Pigeon pea اثر داد و افزایش ارتفاع را مشاهده کرد که اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نمی‌داد و افزایش وزن خشک و تر نیامک، پتانسیل آبی برگ، تعرق، فتوسنتز خالص و تبادلات روزنه‌ای نیز اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت **(۱۷)**.

Bradow (۱۹۸۸) اثر الکلهای آلیفاتیک (از جمله اتانول) را بر روی جوانه‌زنی دانه‌های پیاز، هویج، گوجه و تاج‌خروس بررسی کرد و مشاهده نمود که میزان جوانه‌زنی در آنها کاهش می‌یابد. او علت کاهش جوانه‌زنی را تأثیر الکل بر ساختار لیپیدی غشاء و اثر آن بر شکل فضایی پروتئینهای غشایی دانست **(٦)**.

Roberts و همکاران (۱۹۹۵) با به‌کارگیری متانول ۵۰ـ۱۰٪ بر روی گیاه Bread fruit افزایش در ارتفاع درخت، طول شاخه‌ها و تعداد برگ را گزارش کردند **(۲۱)**. طی تحقیقات Mencarellsoviet (۱۹۸۸) بخار اتانول موجب تأخیر در تغییر رنگ از سبز به قرمز و رسیدن گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود **(٤)**.

جوانه‌زنی و رشد در سیب‌زمینی ترشی با تیمار اتانول ۰/۵٪ به اندازهٔ ۵۰ درصد کاهش می‌یابد و فعالیت تقسیم سلولی آن با تیمار ۲٪ کاملاً متوقف می‌شود Peratan **(٤)**. رشد بافت کالوس سیب‌زمینی در اتانول ۴٪ به‌طور کامل متوقف می‌شود.

2. *Agrostis palustris Huds*

www.SID.ir

Archive of SID

Van derpres (٤) در کشتهای گیاه رز غلظتهای پایینتر از ۲٪ اتانول تأثیری در جوانه‌زنی یا وزن تر ندارد، اما در غلظتهای بیش از آن کاهش در جوانه‌زنی و وزن تر به‌طور محسوسی مشاهده می‌گردد. محققان دانه‌های سویا را در زمانهای ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه در متانول ۵٪ خیساندند. حداکثر قدرت جوانه‌زنی، رشد ریشه‌چه و رشد هیپوکوتیل در متانول ۱۰٪ و زمان ۳۰ دقیقه و حداقل آن در متانول ۵٪ و زمان ۶۰ دقیقه اعلام شد. مجد و جنوبی (۷۶ـ۱۳۷۵) اتانول را با غلظتهای ۲ تا ۸٪ بر روی گیاه سویا اثر دادند و کاهش معنی‌داری در ارتفاع، تعداد گره، طول میان گره و افزایش تعداد شاخه‌ها مشاهده کردند (۲). مجد و جعفریه مرندی روی بادام‌زمینی نشان دادند که اتانول می‌تواند موجب افزایش در ارتفاع گیاه شود (۱).

Lee-Hang Jiltern (۱۹۹۵) محلولهای آبی اتانول را بر روی برگهای گیاه گوجه‌فرنگی اثر دادند و مشاهده کردند که اتانول از نمو میوه‌ها جلوگیری نموده یا آن را به تعویق می‌اندازد (٤). همچنین بررسی نشان داد بخار اتانول روی بافتهای میوه بیشتر مؤثر است و اتانول از تولید لیکوپن و اتیلن جلوگیری می‌کند.

Hewoge & Wain wright غلظتهای مختلف اتانول را روی گیاه موز بررسی نموده مشاهده کردند که اتانول اثر ناچیزی روی رسیدگی میوه موز دارد (٤).

Peltonen(۱۹۹۷) اتانول را با غلظتهای ۳۰ تا ۶۰ درصد بر روی گندم به‌کار برد. اتانول به‌طور مؤثری لکه‌های برگی گندم حاصل از بیماری را کاهش می‌داد اما باعث افزایش رشد نگردید (٤).

Imed. Edami (۱۹۹۶) متانول را بر انگور اثر دادند و مشاهده کردند که هیچ تفاوت مهمی در فتوسنتز، تنفس، مقاومت روزنه‌ای و وزن حبه‌های انگور مشاهده نکردند (۳). مجد و جنوبی (۱۳۷۶-۱۳۷۵) اتانول را با غلظتهای ۲ تا ۸ درصد بر روی گیاه سویا اثر دادند، ارتفاع کاهش محسوسی یافت، فاصله میان‌گره، قطر ساقه اصلی و تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد نیام و وزن هزاردانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. اتانول در میزان پروتئین و چربی دانه‌ها افزایشی ایجاد نمی‌کند. دیوارهٔ کالوزی اطراف تترادهای دانه گرده که از آغاز میوز بوجود می‌آید، پس از میوز و تشکیل اولین آغاز اگزین از بین می‌رود. در تیمارهای الکلی به‌خصوص متانول ۲۰٪ حجیمتر شده و بقاء آن طولانیتر از مشاهده است (۲).

مجد و جنوبی (۱۳۷۵) بیان داشتند که تیمارهای اتانولی موجب افزایش ضخامت دیواره کالوزی در دانه‌های گرده می‌گردد. افزایش ضخامت اگزین در نمونه‌های تیمار شده با الکل مجد ـ صالحی (۱۳۷۸) هم می‌تواند به علت پشتیبانی گرده در برابر الکل باشد و هم می‌تواند دلیلی بر مناسبتر شدن شرایط مناسب رشد و تکوین گرده‌ها با افزودن الکل باشد.

Nakai و Mastum (۱۹۹۳) با اثر متانول روی برگهای هندوانه سبب افزایش مقدار محصول گردیدند (۳). Bhattacharga و همکاران (۱۹۸۵) عنوان کردند که متانول به‌عنوان محرک رشد ریشه بر روی Vignaradiata عمل می‌کند (۳). Dorglas، Klepper و Albeeht (۱۹۹۳) متانول را در غلظتهای ۴۰-۲۰ درصد روی برگهای گندم زمستانه و بهاره اثر دادند ولی هیچ‌گونه تأثیری را در میزان رشد و عملکرد آن مشاهده نکردند.

Esensee و Boales (۱۹۹۴) با به‌کارگیری متانول با غلظتهای ۱۰-۴ درصد روی کلم و پیاز تفاوت معنی‌داری را در طول و قطر ساقه و وزن تر و خشک ریشه و ساقه مشاهده نکردند. Albrecht (۱۹۹۵) متانول را روی گندم زمستانه به‌کار برد ولی هیچ پاسخ مثبت و منفی مشاهده نکرد (۵). Esensee (۱۹۹۵) متانولهای ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰و ۴۰درصد را روی فلفل، کلم، هندوانه به‌کار برد ولی تفاوت معنی‌داری در قطر یا طول و وزن تر ساقه ایجاد نکرد (۹).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری کلی که از بررسیهای محققین به‌دست آمده است نشان می‌دهد که تأثیر اتانول از اثرات متانول بهتر می‌باشد. اثرات تیمارهای الکلی در مراحل اولیه رشد و نمو گیاه بیشتر از مراحل انتهایی رشد گیاه می‌باشد. متانول و اتانول در گیاهانی که بیشتر مراحل رویشی‌شان در فصل گرما می‌باشد نسبت به گیاهان گلخانه‌ای یا گیاهانی که در فصل سرما رشد و نمو می‌کنند مؤثرتر هستند. متانول در گیاهان $C_۴$ بی‌تاثیر است **(۳)**.

از آنجایی که اتانول باعث حل‌شدن لیپیدهای سطح گیاه و غشاء پلاسمایی می‌گردد و تراوایی غشاء را تغییر می‌دهد، مسلماً تأثیر زیادی بر ساختار تشریحی و رشد و نمو گیاه دارد. به همین دلیل ما اثر غلظتهای مختلف اتانول را بر جوانه‌زدن بذر و ساختار تشریحی گیاه مثل اندازه کرکها، تعداد روزنه‌ها و ابعاد سلولهای گیاهی لوبیا[3] بررسی نمودیم و در این آزمایش از غلظتهایی بالای اتانول نیز استفاده شد که در همه این غلظتها گیاهان به رشد خود ادامه دادند ولی ساختار تشریحی آنها با هم اختلاف داشت.

مواد و روشها

تعدادی بذر لوبیا از ارقامی که در خوزستان و شیراز کشت می‌گردد را سه روز در آب خیساندیم. سپس هر ده عدد بذر را با مواد زیر تیمار نمودیم: آب (۰)، اتانول ۱۰٪ (۱)، ۲۰٪ (۲)، ۳۰٪(۳)، ۴۰٪ (۴) ۵۰٪ (۵)، ۶۰٪ (۶)، ۷۰٪ (۷)، ۸۰٪ (۸)، این بذرها ۱۲ ساعت در تیمارهای زیر قرار داشتند. پس از ۱۲ ساعت دیگر دوباره ۱۲ ساعت در آب قرار داده شدند.

پس از ۱۲ ساعت تعدادی از بذرها جوانه زدند. برای این که تعداد بذرهای جوانه زده بیشتر شود دوباره با آب خیسانده شدند و پس از ۲۴ ساعت از نمونه‌هایی که در تیمار ۰ تا ۵ قرار داشتند، با توجه به اینکه تعدادی جوانه زده بودند به خاک انتقال یافتند. خاک از ماسه، رس و هوموس تشکیل شده بود و برای همه بذرها یکسان بود. این گلدانها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و بذرها در فاصله ۱ سانتی‌متری خاک قرار داده شدند. پس از رشد جوانه‌ها و ایجاد برگهای اولیه و خروج جوانه انتهایی سطح رویی برگهای اولیه یک روز در میان با آب و درصدهای مختلف اتانول اسپری شدند. میزان آب و اتانول به همان میزان بود که برای بذرها آنها استفاده شده بود.

تیمار چهار بار انجام و سپس گیاهان خشک شده مورد بررسی تشریحی قرار گرفتند. به این ترتیب که ابتدا گیاهان را در یک تثبیت کننده قرار داده و سپس از آنها مقطع تهیه شد. برای مشاهده ساقه، بعد از تهیه برشهای طولی و عرضی به روش متداول آزمایشگاه، پس از قراردادن آنها در آب ژاول، اسیداستیک ۴٪، آبی متیل و کارمن زاجی از هریک چندین نمونه تهیه گردید.

برای مشاهده روزنه و کرکها از اطراف بشره رگبرگ میانی برگهایی که اسپری شده بودند و شاخص روزنه‌ای نیز با استفاده از عدسی ۴۰ و از فرمول $I=\frac{S}{E+S}\times ۱۰۰$ محاسبه شد و برای بررسی فرکانس روزنه نیز از میان دید عدسی ۴۰ استفاده گردید **(۳)**.

برای مطالعه ابعاد سلولهای پارانشیم مغزی از برشهای عرضی و برای مطالعه آوندها از برشهای طولی قطعاتی از ساقه استفاده شد که ۵ میلی‌متر پایینتر از زیر میانگره برگهای اولیه‌ای که اسپری اتانول بر روی آنها انجام شده بود قرار داشت. ابعاد سلولها با میکرومتر چشمی اندازه‌گیری و برای محاسبات آماری از آنالیز واریانس نرم‌افزار SPSS 9 استفاده شد و معنی‌دار بودن اختلاف میانگینها در سطح ۹۵٪ تعیین گردید.

3. *Phaseulous vulgaris*

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

پس از قرار دادن بذرها به مدت ۳ روز در آب، آنها به‌خوبی متورم شده و آماده جوانی بودند. سپس تیمار بذرها در الکلهای ۱۰ تا ۸۰ درصد قرار گرفتند. همان‌طور که انتظار می‌رفت در الکلهای با غلظت بالا مثل ۶۰ تا ۸۰ درصد، بذرها آب خود را از دست داده و تورم آن از بین رفته بود و به همین دلیل دوباره با آب تیمار شدند. ۱۲ ساعت بعد برای درصد جوانه‌زنی بررسی شدند که نتیجه در جدول ۱ آمده است.

جدول۱. درصد جوانه زنی بذرهای تیمار شده (۲۴ ساعت پس از تیمار)

شماره	نوع تیمار	درصد جوانه زنی
۰	آب	٪۴۰
۱	اتانول ٪۱۰	٪۶۰
۲	اتانول ٪۲۰	٪۴۰
۳	اتانول ٪۳۰	٪۵۰
۴	اتانول ٪۴۰	٪۲۰
۵	اتانول ٪۵۰	٪۱۰
۶	اتانول ٪۶۰	ــ
۷	اتانول ٪۷۰	ــ
۸	اتانول ٪۸۰	ــ

همان طور که مشاهده می‌شود در تیمار با اتانول ٪۶۰ تا ٪۸۰ هیچ یک از بذرها جوانه نزده‌ان، که به علت خشک شدن بذرها یا تثبیت شدن کامل سلولهای آن قادر به جوانه‌زنی نبودند. پس از ۲۴ ساعت قرار دادن دوباره بذرها در آب تعداد بیشتری جوانه زدند که درصد جوانه‌زنی طبق جدول۲ می‌باشد.

جدول۲. جوانه‌زنی بذرها (۴۸ ساعت پس از تیمار)

شماره	نوع تیمار	درصد جوانه‌زنی
۰	آب	٪۷۰
۱	اتانول ٪۱۰	٪۱۰۰
۲	اتانول ٪۲۰	٪۷۰
۳	اتانول ٪۳۰	٪۶۰
۴	اتانول ٪۴۰	٪۴۰
۵	اتانول ٪۵۰	٪۳۰
۶	اتانول ٪۶۰	ــ
۷	اتانول ٪۷۰	ــ
۸	اتانول ٪۸۰	ــ

همان‌طور که مشاهده می‌شود الکل ضعیف ۱۰٪ سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی شده است. نمونه های شاهد نیز همه جوانه زدند اما دیرتر جوانه‌زدن صورت گرفت و در سایر تیمارها یعنی اتانول ۲۰٪ تا ۸۰٪، درصد جوانه‌زنی کاهش می‌یابد، تا به صفر می‌رسد که به علت خشک شدن بذرها می‌باشد. البته بذرها ۶۰ تا ۸۰ درصد در آب قرار داده شد تا دوباره آب جذب کنند پس از ۲۴ ساعت تعدادی از بذرها به میزان ۷۰ و ۸۰ درصد نیز جوانه زدند ولی بذرهای تیمار شده در اتانول ٪۶۰ بعد از ۷۲ ساعت جوانه زدند که پس از انتقال به خاک هیچ‌یک رشد نکردند. درصد جوانه‌زنی بذرهای تیمار شده در اتانول ٪۷۰ و ٪۸۰ طبق جدول ۳ آمده است.

جدول۳. جوانه زدن بذرها پس از ۷۲ ساعت پس از تیمار

شماره	نوع تیمار	درصد جوانه زنی
۶	اتانول ٪۶۰	ــ
۷	اتانول ٪۷۰	٪۲۰
۸	اتانول ٪۸۰	٪۳۰

۴۸ساعت پس از کاشت بذرها در خاک جوانه‌ها براساس رشد محور زیر لپه و ساقه از خاک خارج شدند.

جدول٤. درصد خروج ساقه‌ها از خاک

شماره	نوع تیمار	تعداد
۰	آب	٪۴۰
۱	اتانول ٪۱۰	٪۶۰
۲	اتانول ٪۲۰	٪۶۰
۳	اتانول ٪۳۰	٪۵۰
۴	اتانول ٪۴۰	٪۵۰
۵	اتانول ٪۵۰	٪۲۵
۶	اتانول ٪۶۰	ــ
۷	اتانول ٪۷۰	ــ
۸	اتانول ٪۸۰	ــ

www.SID.ir

Archive of SID

ارتفاع ساقه در بذر تیمار شده با اتانول ۱۰٪ افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان نمی‌داد و ارتفاع ساقه در نمونه تیمار شده با اتانول ۸۰٪ کمترین میزان و پس از آن ۷۰٪، ۵۰٪، ۴۰٪، ۳۰٪، ۲۰٪ و سپس آب قرار داشت. بررسی تشریحی ساقه و برگ و اندازه‌گیری ابعاد سلولی آنها نیز همین مطلب را اثبات می‌کند و رشد شاخهٔ فرعی و افزایش تعداد برگ در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشد.

جدول۵. تغییر طول سلول‌های بشره زیرین برگ در اثر اتانول

شماره	نوع تیمار	طول سلولها به میکرون
۰	آب	۲۱/۲۵ ± ۲/۵
۱	اتانول ۱۰٪	۳۰ ± ۷/۸
۲	اتانول ۲۰٪	۲۴/۱۶ ± ۲/۰۴
۳	اتانول ۳۰٪	۲۴ ± ۲/۰۴
۴	اتانول ۴۰٪	۲۴ ± ۲
۵	اتانول ۵۰٪	۲۳ ± ۲/۷
۷	اتانول ۷۰٪	۱۹/۸۳ ± ۲/۴
۸	اتانول ۸۰	۱۴/۴ ± ۰/۵۴

بررسیهای آماری نشان می‌دهد که فقط نمونه‌های تیمار شده با الکل ۱۰٪ و ۸۰٪ با نمونه شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهند. بدین شکل که الکل ۱۰٪ باعث افزایش طول سلولها و الکل ۸۰٪ باعث کاهش طول سلولها گردیده است. سپس بررسی کردیم که آیا غلظت اتانول بر تمایز سلولها هم اثر دارد که اثر آن بر سلولهای روزنه بدین شکل می‌باشد (۷).

مطالعات آماری نشان می‌دهد نمونه شاهد با نمونه‌های تیمار شده با اتانول ۲۰٪ ، ۳۰٪ ، ۵۰٪ و ۸۰٪ تفاوت معنی‌داری را نشان داده و مشخص می‌شود که این غلظتهای اتانول باعث کاهش روزنه‌های روی سطح برگ می‌گردند. البته غلظتهای دیگر نیز سبب کاهش روزنه‌ها می‌گردد، ولی اختلاف معنی‌دار نیست و حداکثر کاهش معنی‌دار در غلظت ۸۰٪ مشاهده می‌شود.

جدول ۶. فرکانس روزنه‌های سطح برگ در گیاهان تیمار شده

شماره	نوع ماده تیمار کننده	تعداد روزنه‌های روی سطح برگ (تعداد در میلی‌متر مربع)	تعداد روزنه‌های زیر سطح برگ (تعداد در میلی‌متر مربع)
۰	آب	۳۱۴±۲۳/۸	۲۰۹/۶±۳۸/۵
۱	اتانول ۱۰٪	۲۶۶±۴۲/۵	۲۷۲±۶۵/۹
۲	اتانول ۲۰٪	۱۷۴/۶±۵۸/۲	۲۴۴/۸±۴۵/۱
۳	اتانول ۳۰٪	۲۳۳/۱±۴۳/۶	۲۳۷/۸±۶۰/۸۹
۴	اتانول ۴۰٪	۲۸۹/۶±۴۸/۳	۲۲۰/۸±۹۹/۳
۵	اتانول ۵۰٪	۱۸۲/۶±۳۳/۳	۲۴۳/۲±۹۴/۷
۷	اتانول ۷۰٪	۳۱۳/۱±۶۶/۶	۳۳۹/۲±۶۶/۳
۸	اتانول ۸۰٪	۲۵/۶±۴۶/۲	۳۲۹/۶±۵۱/۳

البته تعداد روزنه‌های زیر سطح برگ با اسپری اتانول بر روی سطح برگ باعث افزایش معنی‌دار روزنه‌ها در نمونه‌های تیمار شده یا الکل ۷۰٪ و ۸۰٪ در مقایسه با شاهد می‌باشد. روزنه‌های نمونه‌های دیگر نیز نسبت به شاهد افزایش یافته ولی اختلاف آن معنی‌دار نیست.

حال باید بررسی کنیم که آیا اثر اتانول فقط بر تمایز روزنه‌هاست یا بر سایر سلولهای اپیدرمی هم اثر می‌گذارد. به همین دلیل شاخص روزنه را نیز بررسی می‌کنیم.

شاخص روزنه‌های روی سطح برگ در نمونه شاهد نسبت به تیمار الکلی ۲۰٪، ۵۰٪ و ۸۰٪ اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد که در ۲۰٪ و ۵۰٪ کاهش و در ۸۰٪ افزایش شاخص روزنه چشمگیر است. ولی در نمونه‌های دیگر کاهش و یا افزایش نشان می‌دهد که معنی‌دار نیست. علت کاهش در ۲۰٪ کاهش تعداد روزنه‌ها نسبت به کل سلولهای بشره‌ای است و علت افزایش در ۷۰٪ و ۸۰٪ کاهش سلولهای دیگر اپیدرمی و عدم تقسیم آنهاست.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۷. شاخص روزنه‌های سطح برگ

شماره	نوع تیمار	شاخص روزنه روی سطح برگ	شاخص روزنه زیر سطح برگ
۰	آب	۷/۶±۸/۶	۹±۲/۴
۱	اتانول ۱۰٪	۶/۶±۰/۸۹	۱۰±۰/۴
۲	اتانول ۲۰٪	۴/۱±۰/۹۵	۵/۱±۱/۲
۳	اتانول ۳۰٪	۶/۸±۰/۷	۵/۴±۰/۸۳
۴	اتانول ۴۰٪	۶/۱±۱/۳	۶/۲±۰/۶۳
۵	اتانول ۵۰٪	۴/۹±۱/۷	۵/۶±۰/۱۵
۷	اتانول ۷۰٪	۸/۸±۱/۱	۸/۳±۴/۶
۸	اتانول ۸۰٪	۹/۷۱±۲/۳	۱۴/۳±۳/۰۵

در مورد شاخص روزنه‌های زیر سطح برگ همان‌طور که مشاهده می‌شود فقط اتانول ۸۰٪ افزایش چشمگیری را نسبت به شاهد نشان می‌دهد و اختلاف معنی‌داری با شاهد و سایر نمونه‌ها دارد و نشان می‌دهد که در غلظت بالای اتانول، الکل باعث کاهش تقسیم سلولهای اپیدرم زیرین نیز شده است.

حال مناسب است که بررسی نماییم آیا اتانول از طریق برگها به ساقه هم رسیده است و اینکه چه تأثیری بر روی پارانشیم مغزی که در کنار آوندها واقع شده‌اند داشته است.

جدول ۸ تغییر ابعاد سلول‌های پارانشیم مغزی در اثر اتانول

شماره	تیمار	طول سلولها (میکرون)	عرض سلولها (میکرون)
۰	آب	۱۲۰±۴۴	۵۰/۳±۰/۵۷
۱	اتانول ۱۰٪	۱۲۵±۵۰	۵۰±۰/۰۱
۲	اتانول ۲۰٪	۱۷۵±۵۰	۳۰/۳±۴/۶
۳	اتانول ۳۰٪	۱۰۶±۵۵	۳۳/۳۰±۰/۵۷
۴	اتانول ۴۰٪	۱۰۰±۰/۰۱	۳۹/۳±۹/۲
۵	اتانول ۵۰٪	۹۵±۱۰	۳۶/۳±۱۱/۳
۷	اتانول ۷۰٪	۱۰۰±۰/۰۱	۲۹/۵±۱/۲
۸	اتانول ۸۰٪	۶۶/۶۶±۲۵/۸	۳۳/۵±۰/۵۷

آنالیز واریانس نشان می‌دهد تیمار برگها با اتانول ۲۰٪ باعث افزایش و با الکل ۸۰٪ سبب کاهش معنی‌دار در طول سلولهای پارانشیم مغزی نسبت به شاهد می‌گردد. البته عرض این سلولها در تیمارهای اتانول ۲۰٪ تا ۸۰٪ نسبت به شاهد کاهش می‌یابد (که به استثنای تیمار اتانول ۴۰) و در بقیه معنی‌دار است. سپس بررسی نمودیم که آیا اتانول بر طول و فرکانس کرکهای روی سطح برگ نیز موثر بوده است و نتایج زیر به‌دست آمد:

جدول۹. تغییرطول کرکهای سطح برگ گیاهان تیمار شده با اتانول

شماره	نوع تیمار	طول کرکهای سطح برگ (میکرون)
۰	آب	۲۳۳/۱۷±۵۱
۱	اتانول ۱۰٪	۲۱۶/۶۶±۱۹۴
۲	اتانول ۲۰٪	۱۹۰±۲۲
۳	اتانول ۳۰٪	۱۵۰±۵۷
۴	اتانول ۴۰٪	۱۰۴±۲۷
۵	اتانول ۵۰٪	۹۵±۸/۳
۷	اتانول ۷۰٪	۹۴±۸/۹
۸	اتانول ۸۰٪	۸۷/۵±۲۵

البته اختلاف میانگینها بین شاهد و نمونه تیمار شده با الکلهای ۴۰٪، ۵۰٪، ۷۰٪ و ۸۰٪ معنی‌دار است و نشان می‌دهد که تیمارهای فوق باعث کاهش رشد طول کرکها شده‌اند و این مسئله که اتانول بالا سبب کاهش رشد سلول می‌گردد را تأیید می‌کند. بررسی فرکانس کرکهای برگ نیز تفاوتهایی با شاهد را نشان می‌دهد که در جدول ۱۰ ملاحظه می‌کنید. فرکانس کرکهای روی سطح برگ در نمونه‌های تیمار شده با الکل‌های ۱۰٪ تا ۸۰٪ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد که نتیجه می‌گیریم الکل سبب کاهش تمایز سلولهای اپیدرمی سطح زیرین برگ به کرک می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱۰. فرکانس کرکهای سطح برگ در گیاهان تیمار شده

شماره	نوع تیمار	تعداد کرکهای روی-سطح برگ در۰/۲۵ میلی‌متر مربع	تعداد کرکهای زیر سطح برگ در ۰/۱۲۵ میلی‌متر مربع
۰	آب	۱۴/۴±۶/۲	۵/۲±۳/۱۸
۱	اتانول ۱۰٪	۴/۶±۲/۲۵	۹±۱/۸۹
۲	اتانول ۲۰٪	۴/۱±۰/۹۵	۸/۶۶±۴ /۱
۳	اتانول ۳۰٪	۸/۱۴±۲/۶۴	۱۲/۷۱±۶/۱۱
۴	اتانول ۴۰٪	۴/۲۵±۱/۴۷	۶/۷۱±۳/۶۱
۵	اتانول ۵۰٪	۴/۹±۱/۷	۱۰±۴/۸۵
۷	اتانول ۷۰٪	۴/۱۲۵±۲/۰۸	۱۰/۸۳±۳/۷۶
۸	اتانول ۸۰٪	۹/۷۱±۲/۳	۱۹/۱۶۶±۱/۷۷

همان‌طور که در جدول مشاهده می‌کنید افزایش غلظت اتانول از ۱۰ تا ۸۰ درصد سبب افزایش کرکها در زیر سطح برگ گردیده است به‌طوری که نمونه شاهد با نمونه‌های تیمار شده با الکلهای ۳۰٪، ۷۰٪ و ۸۰٪ اختلاف معنی‌داری دارد و در این تیمارها کرکهای پشت سطح برگ در مقایسه با شاهد افزایش یافته است. البته نمونه شماره ۸ حداکثر فرکانس را دارا می‌باشد و نسبت به همه تیمارهای دیگر افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. سپس به این مسئله پرداختیم که آیا الکل در طول آوندهای چوبی جوان ساقه که در آن جریان یافته است نیز تغییراتی ایجاد نموده است یا خیر و نتایج زیر به‌دست آمد.

جدول ۱۱. تغییر طول آوندهای چوبی جوان با غلظتهای متفاوت اتانول

شماره	نوع تیمار	طول سلول (میکرون)
۰	آب	۱۶۰±۴۸/۹
۱	اتانول ۱۰٪	۲۶۰±۸۹/۴
۲	اتانول ۲۰٪	۳۰۰±۱۰۰
۳	اتانول ۳۰٪	۲۲۰±۷۴/۸
۴	اتانول ۴۰٪	۲۲۰±۵۰
۵	اتانول ۵۰٪	۱۷۰±۴۰
۷	اتانول ۷۰٪	۱۲۰±۴۰
۸	اتانول ۸۰٪	۱۳۰±۴۰

همان‌طور که جدول نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمارها ۱۰٪ و ۲۰٪ وجود دارد، ولی نمونه‌های تیمار شده با اتانول ۷۰٪ و ۸۰٪ نسبت به سایر نمونه‌ها طول آوند کوتاهتری دارند و اختلاف معنی‌داری را با نمونه‌های ۱۰٪ ،۲۰٪ ، ۳۰٪ و ۴۰٪ نشان می‌دهند که احتمالاً تغییر در دریافت پیامها از ریشه به ساقه که در اثر اتانول ایجاد می‌گردد **(۲۳)** در اثر کاهش طول آوندها و تغییر تراوایی غشاء است. البته سلولهای پارانشیمی آوندی آنها هم کوتاهتر شده‌اند و دیوارهٔ آنها و آوندها ضخیمتر گردیده است.

بحث و نتیجه

نتایج جوانه زنی بذر همان‌طور که در آزمایش ما نشان می‌دهد با افزایش میزان اتانول از ۲۰٪ تا ۸۰٪ باعث کاهش جوانه‌زنی بذر گردیده و این نتیجه با نتایج Bradow (۱۹۸۸) که اثر اتانول را بر جوانه‌زنی پیاز، هویج، گوجه‌فرنگی و تاج‌خروس بررسی کرد و مشاهده نمود جوانه‌زنی کاهش می‌یابد مشابه است. اول علت کاهش جوانه‌زنی را تأثیر الکل بر ساختار لیپیدی غشاء و اثر آن را بر شکل فضایی پروتئینهای غشایی دانست **(٦)** و نتیجهٔ تسریع جوانه‌زنی در اثر الکل ۱۰٪ مشابه نتایج محققین در مورد سویا است **(۳)**.

نتایج به‌دست آمده در مورد ارتفاع گیاه که با افزایش الکل از ۲۰٪ تا ۸۰٪ کاهش می‌یابد مشابه نتایج مجد – جنوبی است **(۲)** و با نتایج Niero (۱۹۹۱) که ایزوپنتنیل الکل را بر ذرات اثر داد و افزایش طولی حدود ۲/۰۷ برابر ارتفاع گیاه را گزارش کرد همخوانی ندارد **(۳)** و با نتایج Mc David (۱۹۹۵) که متانول ۱۵٪ را روی برگهای Pigeon Pea اثر داد و افزایش ارتفاع غیرمعنی‌داری را با شاهد مشاهده کرده مطابقت دارد **(۱۷)**. نتایج به‌دست آمده رشد شاخهٔ فرعی و افزایش تعداد برگها که در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده

www.SID.ir

Archive of SID

نشد با نتایج Roberts و Russel (۱۹۹۵) که با به‌کارگیری متانول ۵۰-۱۰ درصد روی گیاه Bread fruit افزایش طول شاخه‌ها و تعداد برگها گردیده مطابقت ندارد **(۲۱)**. نتایج به‌دست آمده در مورد تغییر سلولهای بشره زبرین برگ که در اتانول ۱۰٪ افزایش طول مشاهده می‌شود با نتایج بروس (۱۹۹۸) در سلولهای کشت شدهٔ توتون که افزودن اتانول ۵۰٪ به میزان ۱ میکرولیتر به محیط کشت سلولها طول سلولها افزایش می‌یابد همخوانی ندارد **(۷)** و با نتایج Van derp1ec که رشد بافت کالوس سیب‌زمینی در اتانول ۴٪ به طور کامل متوقف می‌شود همخوانی ندارد **(٤)**.

در مورد فرکانس روزنه‌های روی سطح برگ که با افزایش اتانول کاهش یافته است و در پشت برگ در تیمار ۷۰ و ۸۰ درصد افزایش یافته است با نتایج Albrecht (۱۹۹۵) که متانول را روی گندم زمستانه و بهاره به‌کار برد، هیچ تفاوتی در سطح برگی، تراکم روزنه‌ای و وزن ویژه برگی میان تیمارها و شاهد مشاهده نکرده و همخوانی ندارد **(۵)**. نتایج به‌دست آمده در مورد افزایش شاخص روزنه در تیمارهای ۸۰٪ و کاهش آن در تیمار ۲۰ و ۵۰ درصد با نتایج Albrecht (۱۹۹۵) در مورد عدم تغییر تراکم روزنه همخوانی ندارد **(۵)** و با نظریهٔ عدم فعالیت تقسیم سلولی در سیب‌زمینی ترشی با تیمار ۲٪ اتانول (Peratan) و توقف رشد بافت کالوس سیب‌زمینی در اتانول ۴٪ (Van derp1ec) همخوانی دارد **(٤)**. چون افزایش شاخص روزنه در تیمار ۸۰٪ در اثر عدم تقسیم سلول‌های اپیدرمی و کاهش آنها بوده است. نتایج به‌دست آمده در مورد ابعاد سلولهای پارانشیم مغزی که طول آنها در اتانول ۲۰٪ افزایش و در ۸۰٪ کاهش معنی‌داری دیده می‌شود و عرض آنها در تیمارهای ۲۰ تا ۸۰ درصد کاهش می‌یابد با نتایج در مورد کاهش قطر دانه گرده در تیمار با متانول همخوانی دارد **(۳)**.

نتایج به‌دست آمده در مورد طول کرکهای سطح برگ نشان می‌دهد که اتانول ۴۰٪ تا ۸۰٪ سبب کاهش طول کرکها گردیده است و با نتایج اثر الکل بر کاهش قطر دانه‌های گرده در تیمار ۳۰٪ همخوانی دارد **(۳)**.

در مورد فرکانس کرکهای روی سطح برگ نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که فرکانس کرکها در تیمار با الکل کاهش می‌یابد، ولی فرکانس کرکهای زیر سطح برگ در تیمار با الکل افزایش را نشان می‌دهد و این افزایش در تیمارهای الکلی ۳۰، ۷۰ و ۸۰ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. در مورد طول آوندهای چوبی جوان فقط در اتانول ۱۰ـ۲۰ درصد افزایش معنی‌داری با شاهد نشان می‌دهند و دیوارهٔ آنها و سلولهای پارانشیمی بین آنها در تیمار ۷۰ و ۸۰ درصد ضخیمتر گردیده و کوتاهتر شده‌اند. طی گزارشات مجد صالحی در مورد تیمار با الکل ضخامت اگزین را در سلولهای گرده افزایش می‌دهد و کاهش قطر سلول گرده در اثر الکل همخوانی دارد **(۳)**.

منابع

۱. مجد، جعفریه مرندی، س. (۱۳۷۵)، « اثر تنفس ناشی از کلرور سدیم بر تکوین اندام‌های رویشی، زایشی و میزان باردهی در دو زخم از بادام زمینی»، *پایان‌نامه فوق لیسانس دانشگاه تربیت مدرس؛*

۲. مجد، جنوبی، پ (۱۳۷۵)، «اثر اتانول بر نمو رویشی و زایشی، برخی ویژگیهای عملکردی و جوانه زنی سویا»، *پایان‌نامه فوق لیسانس دانشگاه آزاد تهران شمال*؛

۳. مجد ، دهپور جویباری، ع. (۱۳۷۹)، «بررسی اثرات اتانول و متانول بر نمو رویشی و زایشی و برخی ویژگیهای عملکردی گندم و سویا»، پایان‌نامه فوق لیسانس دانشگاه تربیت معلم؛

۴. مجد، سامعی، م. (۱۳۸۰) «اثر مقایسه‌ای اتانول و متانول بر برخی از گیاهان C۳ و C۴»، *پایان‌نامه فوق لیسانس دانشگاه آزاد تهران شمال*؛

5. Albrecht, S.L. et al (1995) "Effects of foliar ethanol application on crop yield". Crop Science. 35 , 1642-46;

www.SID.ir

Archive of SID

6. Bradow, IM. et al (1988) "Seed germination by volatile alchols and other compounds associated with American patmeri residues. Journal of chemical ecology". 14(7). 1638-48;

7. Bruce, M. L. and Cosyrove, D.J. (1998), "Acid, growth response and expansions in suspension cultures of bright yellow 2 tobacco". Plant physiology, 118:907-916;

8. Cubas, P. (1999), "The TCP domain a motif, Found proteins regulating plant growth and development, *Plant Journal 18* (2), 215-222;

9. Esensee, V. et al (1998), *Inefficacy of methanol as a growth parameter in selected vegetable grops*, Hort. Technology, 5(3), 253-256;

10. Fagerness, M. J. and Yelverton, F. H. (2001), Plant growth, regulator and moving height effects on seasonal root growth of Penn cross creeping bent grass, *Crop science*, 41:1901-1905;

11. Heins, R. D. et al (1980), Influence of ethanol on ethylene biosynthesis and flower *sciences of cut carnation, Scienia. Horticultural*, 13:4 , 361-364;

12. Ibrahim, M. A. and Holocaine J. K. (2002), Podiums maculiventris a potential picontrol agent of *Plutella xylostella* is not repelled with limonene treatments on cabbage, Department of Ecology and environmental science of Kopi;

13. Jakson, M. B. (2002), "Long distance signaling from roots to shoots assessed: the flooding story, *Journal of experimental botany*, 35(367);

14. Joshi, M. et al (1995), *Foliar – applied methanol and nitrogen effects on soya bean seed yield and protein*, University of Mariland Eaftern suore – Brinceff Anne , MD 21853 , USA;

15. Liga, M.V., Eraso I. and Sturte, G.W. (2003), "Effects of ethanol on the growth and development of radishes, *A5GSB 2003 annual meeting abstracts*;

16. MALIK C.P., Ksrivastava, A. (1991), *"Distribution of stomata"*, Text book of plant physiology, 206. Kalyani publishers, New Delhi, Ludhiana;

17. Mc David, et al (1995), "The effects of methanol on the growth and yield of Pigeon Pea. *First annual agri – methanol siminar*, University of the west indies, Trini dad and Tobugo;

18. Mecarelli, F. et al (1991), "Control of flower and bract abscission of Bougainvillea branch by ethanol solution. Agricultural. Mediterania. 21(3), 282-286;

19. Podd, L. and Van Staden, (2002), Physiological response and extension of Vase Life of cut carnation flowers treated with ethanol and acetaldehyde. I. Chlorophyll content and carbohydrate status. Plant growth regulation, 38:99-105;

20. Roberts, et al (1995), "The effect of methanol application on vegtive growth of bread fruit", *First annual Agri – methanol siminar*, University of the west indies, Trinidad and Tobugo;

21. Sharonl. K. (1989), *Generations and selection of phytophora cinnamomi resistant A vacado root stocks through society*. 73:65-70;

22. Urbonchuk Jo; M. (2002), *ethanol and the local community*, SJH & company;

23. Wu. M. G. et al (1992), Alchohole and carnation science hortcuience (USA) (FEB) U. 27(2), 136-138. ■

www.SID.ir