



اثر محلول پاشی مтанول بر عملکرد و تعدادی از صفات فیزیولوژیک لوبيا

مجتبی میرآخوری^۱، فرزاد پاکنژاد^۲، یاسر ریحانی^۳، پریسا ناظری^۴، فرهود یگانه‌پور^۵،
نعیم جمشیدی^۶ و مهدی غفاری^۷

چکیده

به منظور بررسی اثر مтанول بر محتوای نسبی آب سلول و محتوای کلروفیل برگ لوبيا، آزمایشی با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در سال زراعی ۱۳۸۸ در مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج اجرا شد. در این آزمایش از یک تیمار شاهد M0 (بدون مصرف مтанول) و از تیمارهای M1، M2، M3، M4، M5، M6، M7 به ترتیب با محلول‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد حجمی مтанول استفاده شد. سه بار محلول پاشی در طی فصل رشد با فواصل ۱۲ روز یک بار بر روی قسمت‌های هوایی بوته‌های لوبيا انجام شد. صفاتی نظیر عملکرد دانه، درصد پروتئین، تجمع ماده خشک، محتوای نسبی آب سلول و محتوای کلروفیل برگ لوبيا اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری صفات ذکر شده قبل و بعد از محلول‌پاشی‌ها صورت گرفت. نتایج نشان داد که بین اثر محلول‌های مختلف بر محتوای کلروفیل برگ (Chl) و محتوای آب نسبی سلول (RWC) مرحله دوم و سوم در سطح احتمال ۱ درصد و بر عملکرد دانه (GY) تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود دارد. همچنین، نتایج حاکی از آن بود که تجمع ماده خشک تحت تاثیر تیمارهای مтанول مصرفی قرار گرفته است. مقایسه میانگین‌ها نشان دادند که با افزایش سطح محلول‌پاشی مтанول، مقدار کلروفیل (Chl) و محتوای نسبی آب سلول (RWC)، افزایش یافت. اثر سطح ۵-۱۰ درصد میانگین‌ها بیشتر از سایر تیمارها بودند و در نهایت محلول‌پاشی M3، M4، M5 متابول باعث افزایش عملکرد، محتوای کلروفیل برگ، محتوای آب نسبی سلول و سطح برگ گردید.

واژگان کلیدی: لوبيا، مтанول، محتوای نسبی آب سلول برگ و محتوای کلروفیل برگ.

-
- ۱- دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، عضو باشگاه پژوهشکران جوان (نگارندهی مسئول)
mojtaba.mirakhori5@yahoo.com
- ۲- به ترتیب دانشیار و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
- ۳- کارشناس ارشد زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و عضو باشگاه پژوهشکران جوان
- ۴- دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و عضو باشگاه پژوهشکران جوان
- ۵- تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۳۰
- ۶- تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۸

(Benson, 1992). نقش عمدۀ ای که این مواد دارند، جلوگیری از کاهش اثر تنفس‌های القا شده به گیاهان زراعی در انجام تنفس نوری آنها است (Ramberg *et al.*, 2002). واکنش شیمیایی فتوسیستم دو به شدت تحت تاثیر آب قرار می‌گیرد به طوری که وقتی روزنه‌ها به علت تنفس خشکی و یا دمای زیاد بسته می‌شوند، دی‌اکسیدکربن قابل دسترس کاهش یافته، بنابراین انتقال الکترون در اثر محدودیت دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد و در نتیجه قدرت آسیملاسیون محدود می‌شود (Liang *et al.*, 2000; Paknejad *et al.*, 2007). از طرف دیگر بسته بودن روزنه‌ها موجب افزایش دمای برگ و گیاه گردیده و در Taiz and Liang *et al.*, 2000؛ (Araus *et al.*, 1998; Zeiger, 2001) نتیجه آن فرایند نوری محدود می‌شود (Araus *et al.*, 1998; Zeiger, 2001). محلول‌پاشی مтанول یکی از راه‌هایی است که باعث افزایش تثبیت CO_2 در گیاهان زراعی در واحد سطح می‌شود. برخی از بررسی‌هایی که تاکنون در زمینه اثر مثبت محلول‌پاشی مтанول بر رشد و عملکرد گیاهان صورت گرفته است، نشان داده‌اند مصرف تیمارهای مтанول در بوته‌هایی از گیاهان زراعی که دارای کمبود آب هستند، باعث افزایش بیوماس آنها می‌گردد در حالی که تیمار کردن گیاهان زراعی دارای آب کافی با مтанول، بیوماس آنها را کاهش می‌دهد (Nonomiora and Benson, 1992; Ramberg *et al.*, 2002; Ramirez *et al.*, 2006; Zbice *et al.*, 2003).

طبق گزارش‌های Nonomiora و Bensson (1992) محلول‌پاشی ۱۰ تا ۵۰ درصد مтанول سبب افزایش عملکرد و رشد در گیاهان می‌شود. این دو محقق علت این افزایش عملکرد را کاهش میزان تنفس نوری و همچنین افزایش مقدار آماس سلولی بافت گیاهی دانستند. محلول‌پاشی مtanول به طور غیرمستقیم سبب تحریک باکتری‌های متیلوتروف می‌شود. این باکتری‌ها با تولید

مقدمه

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از گیاهان زراعی مهم خانواده بقولات است به طوری که دانه لوبیا دارای ۲۰-۲۵ درصد پروتئین و ۵۰-۵۶ درصد هیدرات کربن می‌باشد و در مقایسه با غلات ۲ تا ۳ برابر و نسبت به گیاهان نشاسته‌ای ۱۰ تا ۲۰ برابر Castrillo *et al.*, 2004) دانه‌های رسیده حبوبات دارای ارزش غذایی زیاد و دوام بالایی هستند و در رژیم غذایی بیشتر مردم جهان نقش مهمی را بازی می‌کنند. بر اساس آمار انتشار یافته سطح زیر کشت جهانی این گیاه بالغ بر ۲۴ میلیون هکتار با متوسط عملکرد جهانی در حدود ۶۰۰ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). سطح زیر کشت این گیاه در ایران ۱۲۵ هزار هکتار با میانگین عملکردی بیشتر از متوسط عملکرد جهانی در حدود ۱۴۷۰ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004) دارای ارزش غذایی زیاد، قابلیت نگهداری به مدت طولانی و سرشار از پروتئین (۳۲-۱۸ درصد) می‌باشند (Pormousavi *et al.*, 2007) و از آن جایی که این دانه‌ها بعد از غلات دومین منبع غذایی بشر و دام به شمار می‌روند، استفاده از تنظیم کننده‌های رشد جهت بهبود رشد گیاهان زراعی در جهت افزایش تولید حبوبات، یکی از راه حل‌های اساسی و مفید جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصول، تأمین امنیت غذایی، پایداری در تولید به نظر می‌رسد. اخیراً محققین به دنبال ترکیباتی هستند که بتواند سبب افزایش غلظت دی‌کسید کربن در گیاهان و موجب تثبیت عملکرد در آنها شود. در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی موادی نظیر مtanول، بوتانول، گلیسین و آسپارتات در جهت افزایش عملکرد گیاهان زراعی سه کربنیه انجام شده است (Nonomiora and

2002). این افزایش در محتوای کلروفیل بعد از محلول‌پاشی مтанول در انگور نیز گزارش شده است (Rajala *et al.*, 1998). محلول‌پاشی مтанول بر روی بوته‌های فلفل نیز مقدار کلروفیل را افزایش داد (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007) همکاران (Rajala *et al.*, 1998) نیز افزایش مقدار کلروفیل را در بسیاری از گیاهان زراعی گزارش کرده (Li *et al.*, 1995) است. در مقابل لای و همکاران (Castrillo *et al.*, 1994) اعلام کردند که مقدار کلروفیل برگ بوته‌های سویا در اثر محلول‌پاشی تغییر به خصوصی پیدا نکرده است. زمانی که بوته‌های سویا با مтанول ۱۵ درصد تیمار می‌شوند، تورزانس آنها افزایش می‌یابد (Rajala *et al.*, 1998).

کاستریلو و همکاران (Nonomiora and Benson, 1992; Ramirez *et al.*, 2006; Ramberg *et al.*, 2002; Zbice *et al.*, 2003; Theodoridou *et al.*, 2002) آنزمیم روبیسکو مشاهده کردند. به طور کلی، مтанول در فعالیت‌های متابولیکی گیاهان از قبیل تنظیم سرعت متابولیکی مواد در گیاه و نسخه‌برداری ژن‌ها و افزایش فعالیت فتوسنتری و تأخیر پیری در برگ‌ها و افزایش رشد و در نهایت کاهش تنفس نوری تاثیرگذار می‌باشد (Vishgahi *et al.*, 2007).

این تحقیق با هدف ارزیابی عملکرد دانه و محتوای آب نسبی سلول و محتوای کلروفیل برگ لوبیا به محلول‌پاشی مтанول و ارتباط آنها با عملکرد به مرحله اجرا در آمد.

اکسین و سایتوکینین باعث تسربی روند رشد در گیاهان می‌شوند (Ivanova *et al.*, 2001). همچنین، محلول‌پاشی با غلظت ۳۰ درصد باعث افزایش ۱۲ تا ۳۰ درصدی میزان عملکرد در لوبیا، چغندر قند، Zbice گوجه‌فرنگی و کلزا نسبت به شاهد شده است (Zbice *et al.*, 2003). در محلول‌پاشی مтанول بر روی بادام زمینی نشان داده شد که تیمار ۲۰ درصد حجمی مтанول سبب افزایش محتوای کلروفیل و آب نسبی سلول، شاخص سطح برگ، سرعت رشد گیاه، عملکرد دانه می‌شود (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007). به منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب واردہ به دستگاه فتوسنتری اغلب در منابع دیده می‌شود از تکنیک ساده اندازگیری محتوای کلروفیل، محتوای رطوبت نسبی و پایداری غشاء که ممکن است فعل و انفعالات آبی گیاه را نشان دهد، Flageaa *et al.*, 1994; Moffatt *et al.*, 1990 استفاده می‌شود (Paknejad *et al.*, 2007).

محتوای کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتری است (al., 1990). محتوای کلروفیل در اثر تنفس، به علت تولید میزان کلروفیل در اثر تنفس، به علت تولید رادیکال‌های آزاد باشد که باعث پراکسیداسیون این رنگیزها و در نتیجه تجزیه آن می‌شود (Por mousavi et al., 2007; Samimi *et al.*, 2007; Jabari *et al.*, 2006). محلول‌پاشی مtanول بر روی گیاهان دارای کمبود آب باعث افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های آنها می‌شود، در حالی که در گیاهان دارای آب کافی که با مtanول تیمار شدند، مقدار کلروفیل کمی کاهش پیدا می‌کند (Ramirez *et al.*, 2006). البته گزارش شده است که تیمار کردن توتون با مtanول سبب افزایش محتوای کلروفیل برگ شد (Ramirez *et al.*, 2006). در آزمایشی دیگر نیز که روی گندم و یولاف انجام شد، اعلام گردید مقدار کلروفیل بعد از محلول‌پاشی مtanول افزایش یافت (Ramberg *et al.*,

بودند. پس از اماده نمودن زمین بر اساس نتایج تجزیه خاک (عمق ۰-۳۰) به مقدار ۴۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل و ۵۰ کیلوگرم کود اوره در سه مرحله و در قبل و بعد از کاشت مصرف شدند. بذرهای لوبیا ضدغونی شده و در تاریخ ۱۵/۲/۸۷ به طور دستی در عمق ۵ سانتی‌متری کشت شدند. در محل کاشت، ۳-۲ بذر قرار داده شد و پس از سبز شدن بذر در مرحله سه برگی بر اساس تراکم ۱۵-۱۰ بوته در متر مربع، تنک گردید. کلیه کرتها در ۱۱ مرداد ماه برداشت شدند. جهت اندازه‌گیری محتوای کلروفیل، برگ‌ها بعد از انتقال از مزرعه در آزمایشگاه به روش فروس و آرکوزیوا (Ferus and Arkosiova, 2001) محتوای کلروفیل اندازه‌گیری شد (به نقل از Paknejad *et al.*, 2007). در این روش بعد از عصاره‌گیری از برگ میزان نور جذب شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر قرائت گردید و توسط فرمول‌های زیر محتوای کلروفیل محاسبه شدند:

$$\text{Chla}(\text{mg.L}^{-1}) = (12/25 \times A_{663}) - (2/79 \times A_{647}) \times D$$

$$\text{Chlb}(\text{mg.L}^{-1}) = (21/5 \times A_{663}) - (5/1 \times A_{647}) \times D$$

$$\text{Chlab}(\text{mg.L}^{-1}) = (7/15 \times A_{663}) + (18/71 \times A_{647}) \times D$$

که در آنها $\text{Chla} + b$, Chlb , Chla به ترتیب محتوای کلروفیل a , b و مجموع کلروفیل $a+b$ بر حسب میلی‌گرم در لیتر، A : میزان جذب نور توسط عصاره در طول موج‌های مربوطه و D : ضخامت خارجی کوت دستگاه اسپکتروفوتومتر بر حسب سانتی‌متر است.

$$PC(\text{mg.m}^2) = (V / 1000) \times \frac{1}{A} \times ChL(\text{mg.L}^{-1})$$

که در آن PC : محتوای کلروفیل برگ بر حسب میلی‌گرم در متر مربع، V : حجم استون ۸۰ درصد مورد استفاده، A : مساحت برگ مورد استفاده بر

مواد و روش‌ها

این مطالعه جهت بررسی اثر محلول پاشی متابول بر محتوای کلروفیل، محتوای آب نسبی سلول و عملکرد دانه لوبیا در سال زراعی ۱۳۸۸ در منطقه کرج (ماهدشت) واقع در ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه عرض شمالی و ۵۱ درجه و ۶ دقیقه طول شرقی به ارتفاع ۱۳۱۳ متر از سطح دریا، در مزرعه تحقیقاتی دانشکاه آزاد اسلامی واحد کرج به مرحله اجرا در آمد. آزمایش به صورت طرح بلوك‌های کامل تصادفی در سه تکرار و ۸ تیمار شامل یک تیمار شاهد بدون مصرف متابول $M7, M6, M5, M4, M3, M2, M1$ ($M0$)، تیمارهای به ترتیب محلول‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ گرم در لیتر Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007) درصد حجمی متابول استفاده شد. به هر یک از محلول‌های مورد استفاده مقدار ۲ گرم در لیتر گلیسین اضافه شد (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007). این مقدار برای تیمار شاهد نیز استفاده گردید. محلول پاشی بوته‌ها، سه بار در طی فصل رشد و به فاصله ۱۲ روز نسبت به یکدیگر انجام گرفت (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007). اولین محلول پاشی در ۲۰ خرداد ماه ۳۵ روز پس از کاشت و محلول‌های دیگر در ۴۷ و ۵۹ روز پس از کاشت انجام شد. برای انجام محلول پاشی از سه پاش متوری پشتی استفاده شد که دارای حجمی معادل ۱۰ لیتر بود و سعی شد تا نازل سه پاش در ارتفاع ۴۰ سانتی‌متری بالای بوته‌ها قرار داده شود. زمان محلول پاشی در ساعت ۱۶-۲۰ در روزهای تعیین شده انجام شد.

آبیاری به روش نشتی انجام شد. هر کرت شامل ۴ خط کاشت به طول ۴ متر که فاصله ردیف‌ها ۶۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر بودند. برای جلوگیری از نشت آب بین کرت‌ها، دو ردیف به صورت کاشته نشده گذاشته شد. تهیه زمین شامل شخم اصلی، دو دیسک عمود بر هم و لول

درون کیسه های پلاستیکی قرار داده شد و جهت بررسی های مختلف به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه، اندام های مختلف برگ و ساقه جدا شد و در درون پاکت های کاغذی قرار گرفت و در آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک و توسط ترازوی دقیق وزن شدند. به این ترتیب، مولفه های وزن خشک برگ و وزن خشک کل گیاه^۱ در طول دوره رشد اندازه گیری شدند. داده ها پس از جمع آوری به کمک نرم افزار SAS روابط وزن خشک برگ و وزن خشک کل با زمان با تحلیل رگرسیون (به روش گام به گام^۲) مورد مطالعه قرار گرفته و روش گردید که تغییرات وزن خشک برگ و کل گیاه از یک معادله درجه دوم پیروی می کنند که جهت کاهش وابستگی واریانس با میانگین از لگاریتم نپرین (Ln) هر کدام از این صفات استفاده به عمل آمد (Ramirez et al., 2006; Ramberg et al., 2002; Larsson et al., 1998

$$TDW = EXP(a + bx + cx^2)$$

در رابطه فوق a و b و c ضرایب رگرسیونی، x زمان، TDW ماده خشک کل می باشند (Taiz and Zeiger, 2001). کلیه محاسبات آماری با استفاده از REG, GLM, ANOVA نرم افزار SAS و مدل های معملاً SAS انجام شد. معادلات برآورده ماده خشک تولیدی، وزن برگ با استفاده از روش رگرسیونی بین وزن خشک اندازه گیری شده به عنوان متغیر وابسته و روزهای پس از کاشت به عنوان متغیر مستقل انجام و پس از محاسبه a و b و c تعیین گردید و زمان پس از محاسبه ضرایب رگرسیونی و آزمون آن طبق فرمول های فوق الذکر تعیین گردید. تجزیه واریانس و محاسبات آماری صفات مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها از نظر

۱- Total dry weight

۲- Stepwise

حسب متر مربع و Chl محتوای کلروفیل به دست آمده از فرمول های قبلی بر حسب میلی گرم در لیتر است. پس از به دست آوردن مقدار کلروفیل (a+b) و مقدار Spad آنها که قبلاً اندازه گیری شده بود، رابطه رگرسیونی بین مقدار کلروفیل (a+b) و مقدار Spad به دست آمد که از طریق قرار دادن مقدار Spad سنجش شده از هر کرت به جای x معادله مقدار مجموع کلروفیل (a+b) بدست آمد. در این آزمایش معادله رگرسیونی بین مقدار Spad و محتوای کلروفیل قبل و بعد از محلول پاشی سوم متابول عبارت بود از :

$$Y_2 = 8.74x + 46.27 \quad R^2 = 0.95$$

$$Y_1 = 11.39x - 19.3 \quad R^2 = 0.95$$

در این آزمایش میزان محتوای رطوبت نسبی از طریق معادله زیر به دست آمد (Paknejad et al., 2007).

$$\% RWC = \frac{F_w - D_w}{S_w - D_w} \times 100$$

F_w : وزن تر برگ، D_w : وزن خشک برگ و S_w : وزن اشباع برگ می باشد.

اندازه گیری محتوای کلروفیل، محتوای نسبی آب در سه مرحله، یعنی یک روز قبل و بعد از محلول پاشی ها انجام گرفت.

به منظور بررسی شاخص های فیزیولوژیک در طول فصل رشد جمعاً تعداد ۵ نمونه برداری و با توجه به شرایط مزرعه و رطوبت خاک به فاصله تقریبی دو هفته یکبار انجام گرفت و اولین نمونه برداری ها ۳۵ روز بعد از کاشت صورت گرفت. روش نمونه برداری بدین نحو بود که پس از حذف یک متر از ابتدا و انتهای هر کرت و همچنین حذف دو خط کناری به عنوان حاشیه، نمونه برداری در مساحت ۴/۸ متر مربع از اندام های هوایی برداشت شده و بوته ها بلا فاصله در

جداول تجزیه واریانس (جدول ۱) و مقایسه میانگین (جدول ۲) محتوای کلروفیل برگ لوبيا نشان داد که تفاوت‌های آماری بین میزان محتوای کلروفیل قبل و بعد از محلولپاشی‌ها وجود دارد به‌طوری که میزان محتوای کلروفیل قبل و بعد از محلولپاشی اول از نظر آماری معنی‌دار نشد. از طرفی تیمار ۲۵٪ حجمی مтанول دارای بیشترین میزان کلروفیل بود ولی شرایط بعد از انجام محلولپاشی دوم و سوم کاملاً متفاوت شد، به‌طوری که بعد از انجام محلولپاشی دوم، کلیه‌ی تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفتند و تیمارهای ۲۰ و ۲۵ و ۳۰ درصد حجمی به ترتیب با داشتن میانگین‌های ۳۱۷ و ۳۱۷ و ۳۰۸ دارای بیشترین محتوای کلروفیل نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بودند. نکته قابل توجه این است که با افزایش سطوح محلولپاشی، میزان محتوای کلروفیل افزایش پیدا کرد و این افزایش تا تیمار ۳۰٪ حجمی ادامه داشته و پس از آن در تیمارهای ۲۸٪ و ۳۵٪ حجمی مтанول کاهش پیدا کرد تا جایی که حتی کمتر از تیمار شاهد بودند. این مسئله نشان‌دهنده این است که مقادیر بالای مصرف مтанول باعث تخریب محتوای کلروفیل می‌شود. صفرزاده ویشكاهی و همکاران (Safarazade Vishgahli *et al.*, 2007) گزارش نمودند که مقادیر بالای مصرف مtanول اثر منفی بر مقدار عدد اسید دارد، در حالی که مقدار عدد اسید در تیمارهای ۱۰٪ تا ۳۰٪ درصد حجمی مtanول به تدریج در طول فصل رشد افزایش پیدا کرد. به هر حال استفاده از محلولپاشی مtanول باعث افزایش میزان کلروفیل و افزایش ظرفیت فتوسنترزی در جهت افزایش ماده خشک می‌شود.

بر طبق گزارش‌های Nonomiora و همکاران (Nonomiora and Benson, 1992) مقاومت به تنש‌های محیطی در گیاهان می‌شود. بنابراین، می‌توان گفت مtanول خاصیت ضد تنش و

صفات مورد بررسی به روش دان肯 در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای رسم شکل از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که محتوای کلروفیل برگ و محتوای آب نسبی سلول (RWC) بعد از دومین و سومین محلولپاشی مtanول در سطح احتمال ۱ درصد و عملکرد دانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند، در حالی که بر محتوای آب نسبی و محتوای کلروفیل بعد از اولین محلولپاشی اثر معنی‌داری نداشت. با توجه به نتایج مندرج در جدول (۲) عملکرد دانه در تیمار ۲۰٪ حجمی مtanول با میانگین ۲۵۶۳/۳ کیلوگرم در هکتار دارای بیشترین مقدار بوده و با عملکرد تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشته و با افزایش مقدار مtanول از ۳۰٪ به ۳۵٪ حجمی مtanول عملکرد دانه کاهش پیدا کرد به طوری که حتی از عملکرد دانه تیمار شاهد هم کمتر شد که به اثر سمی مtanول در غلظت‌های بالا نسبت داده می‌شود. بین تیمار ۲۵٪ و ۳۰٪، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. محلولپاشی مtanول در تیمار ۲۰٪ و ۲۵٪ و ۳۰٪ حجمی مtanول به ترتیب موجب افزایش ۳۲/۴۵، ۲۰ و ۲۷/۲ درصدی عملکرد دانه نسبت به تیمار شاهد (محلول پاشی با آب) شده است. طی بررسی‌های لای و همکاران (Li *et al.*, 1995) مشخص شد که محلولپاشی مtanول ۲۵ درصد حجمی، بیشترین اثر را بر رشد و افزایش عملکرد سویا داشت. همچنین محلولپاشی با غلظت ۳۰٪ باعث افزایش ۱۲ تا ۳۰٪ میزان عملکرد در لوبيا، چندرقند و گوجه نسبت به شاهد شده است (Ivanova *et al.*, 2001). این نتایج با نتایج صفرزاده ویشكاهی (Safarazade Vishgahli *et al.*, 2006) و رامirez (Ramirez *et al.*, 2007) و زبیک (Zbice *et al.*, 2003) نیز مطابقت دارد. بررسی

متانول به همراه گلیسین مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش داد (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007). جداول تجزیه واریانس (جدول ۱) و مقایسه میانگین (جدول ۲) محتوای آب نسبی سلول نشان داد که تفاوت‌های آماری بین میزان محتوای آب نسبی سلول قبیل و بعد از محلول‌پاشی‌ها وجود دارد، به طوری که محتوای آب نسبی سلول قبل از محلول‌پاشی اول از نظر آماری معنی‌دار نشد از طرفی تیمارهای ۰٪ و ۲۵٪ حجمی متانول دارای بیشترین میزان محتوای آب نسبی سلول بود ولی شرایط بعد از انجام محلول‌پاشی دوم و سوم کاملاً متفاوت بود، به طوری که بعد از انجام محلول‌پاشی دوم کلیه تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفتند و تیمارهای ۰٪ و ۲۵٪ و ۳۰٪ به ترتیب با داشتن میانگین‌های ۷۸/۶، ۷۶/۷ و ۷۷/۵ دارای بیشترین محتوای آب نسبی سلول نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بودند. شرایط بعد از انجام محلول‌پاشی سوم قدری متفاوت بود، به این صورت که اختلاف بین بوته‌های لوبیا از نظر محتوای آب نسبی سلول بیشتر شد به طوری که ۲۴ ساعت بعد از محلول‌پاشی سوم متانول اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بین این سطوح و شاهد دیده شد و سطح شاهد در گروه آماری دیگری نسبت به سطوح محلول‌پاشی شده قرار گرفت. در این مرحله بیشترین مقدار محتوای آب نسبی سلول متعلق به سطح ۳۰٪ حجمی متانول و کمترین آن نیز متعلق به شاهد بود، در این شرایط متانول سبب افزایش ۴۴ درصدی در مقدار محتوای آب نسبی سلول شد (جدول ۲). نتایج به دست آمده با نتایج Safarazade Vishgahi *et al.* (2007) که در طی تحقیقات خود اظهار نمود که محلول‌پاشی باعث افزایش محتوای آب نسبی سلول در بادام زمینی شده است، مطابقت دارد. در این آزمایش درصد پروتئین در بین تیمارهای اعمال شده

همچنین خنک کنندگی دارد. متانول در گیاهان محلول‌پاشی شده، خاصیت خنک کنندگی داشته و توانسته گیاه را از شوک گرم‌را کند (Nonomiora and Benson 1992). بنابراین، افزایش مقدار کلروفیل می‌تواند با اکسیداسیون متانول در ارتباط باشد، زیرا وقتی بوته‌ها در شرایط کمبود آب با تنفس اکسیداتیو و باسته شدن روزندها و کاهش دی اکسید درون برگی روبه رو می‌شوند، در این شرایط متانول به راحتی توسط عصاره برگ به فرمالدئید اکسید شده و به راحتی در دسترس گیاه قرار می‌گیرد و باعث افزایش مقدار کلروفیل و در نهایت وزن خشک گیاه می‌شود (Ramberg *et al.*, 2002). Theodoridou *et al.*, 2002) اعلام کردند که پس از کلربرد متانول بر روی گیاهان، محتویات درون سلولی و همچنین نسبت کلروفیل a به b در سلول‌های گیاهان افزایش پیدا می‌کنند. محلول‌پاشی متانول بر روی گیاهان دارای کمبود آب باعث افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های آنها می‌شود.

شرایط بعد از انجام محلول‌پاشی سوم نیز به همین صورت ادامه پیدا کرد و حتی اختلاف بین بوته‌های لوبیا از نظر محتوای کلروفیل بیشتر شد به طوری که ۲۴ ساعت بعد از محلول‌پاشی سوم متانول اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بین این سطوح و شاهد دیده شد و سطح شاهد در گروه آماری دیگری نسبت به سطوح محلول‌پاشی شده قرار گرفت. بیشترین مقدار محتوای کلروفیل متعلق به سطح ۲۵٪ و ۳۰٪ حجمی متانول و کمترین آن نیز متعلق به شاهد بود. متانول به ترتیب سبب افزایش ۳۲٪ و ۴۳٪ در مقدار محتوای کلروفیل شد (جدول ۳). Rajala و همکاران (Rajala *et al.*, 1998) افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول‌پاشی متانول اعلام کردند. همچنین، در مطالعاتی که بر روی گوجه‌فرنگی و فلفل انجام شد محلول‌پاشی

خشک در تیمارهای محلولپاشی متانول دیده شد، به طوری که در این مرحله تیمارهای ۲۰ درصد، ۲۵درصد و ۳۰درصد حجمی متانول دارای بیشترین ماده خشک نسبت به سایر تیمارها بودند. پس از محلولپاشی سوم، اثر تیمارهای مختلف بر رشد گیاه سویا بیشتر مشخص شد و احتمالاً طی این دوره گیاه لوبيا به خوبی توانسته است با استفاده از گلایسین و متانول، تثبیت CO_2 را افزایش دهد (Nonomiora and Benson 1992).

از ۷۰ روز پس از کاشت در کلیه تیمارها تجمع ماده خشک به تدریج کاهش یافت و این روند تا آخرین مرحله نمونهبرداری ادامه یافت، اما مقدار کاهش ماده خشک در بوتهای تیمار شده با محلولهای ۴۰ درصد و ۳۵ درصد حجمی متانول بیشتر از سایر تیمارها بودند. به نظر می‌رسد افزایش مقدار مصرف متانول از ۳۵درصد حجمی متانول به بعد، بر روی تثبیت CO_2 و نیز مقدار فتوسنتر خالص گیاه اثر منفی گذاشته است. این نتایج با نتایج Safarazadeh ویشگاهی (Safarazade Vishgahi et al., 2007) که در طی آزمایش خود اعلام نمودند محلولپاشی متانول موجب افزایش ماده خشک بادامزمینی در تیمارهای ۲۰ درصد و ۳۰ درصد حجمی متانول می‌شود، مطابقت دارد. عملکرد ماده خشک و بررسی اندامهای گیاهی روشی دقیق و آسان برای ارزیابی پتانسیل تولید محصولات زراعی در شرایط محیطی مختلف می‌باشد (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). بررسی‌های انجام شده در زمینه افزایش تولید ماده خشک توسط گیاهان پس از تیمار شدن با متانول نشان داده‌اند که تیمار کردن بسیاری از گیاهان سه کربنه با متانول در زمانی که دمای هوا به بالاتر از حد مطلوب برای رشد این گیاهان می‌رسد، باعث افزایش وزن خشک آنها می‌شود (Zbice et al., 2003; Rajala et al, 1998;

در سطح ۵٪ معنی دار گردید (جدول ۱) که با توجه به مقایسه میانگین انجام شده تیمارهای ۳۰٪ و ۲۰٪ ۲۵٪ حجمی به ترتیب با میانگین‌های ۸۴/۲۸ و ۴۵/۲۸ و ۷۹/۲۷ درصد بالاترین میانگین را دارا بودند و در این صفت نیز با افزایش غلظت از ۳۰٪ به ۳۵٪ درصد پروتئین دانه کاهش یافت به طوری که درصد پروتئین در تیمارهای ۳۵٪ و ۴۰٪ حجمی متانول از تیمار شاهد هم بسیار پایین‌تر بود و استفاده از متانول در سطح ۳۰٪ حجمی افزایش ۷۱/۲۶ درصدی را نسبت به تیمار شاهد به همراه داشت. این نتایج با نتایج صفرزاده ویشگاهی (Safarazade Vishgahi et al., 2007) که اظهار نمود محلولپاشی متانول در تیمارهای ۲۰ و ۳۰٪ حجمی متانول باعث افزایش بروتین دانه بادام زمینی می‌شود، مطابقت دارد. با توجه به معنی‌داری درصد پروتئین، افزایش عملکرد دانه و تاثیر متانول بر عملکرد دانه را می‌توان یکی از علل تاثیرگذار در عملکرد پروتئین بیان نمود.

تجمع ماده خشک کل

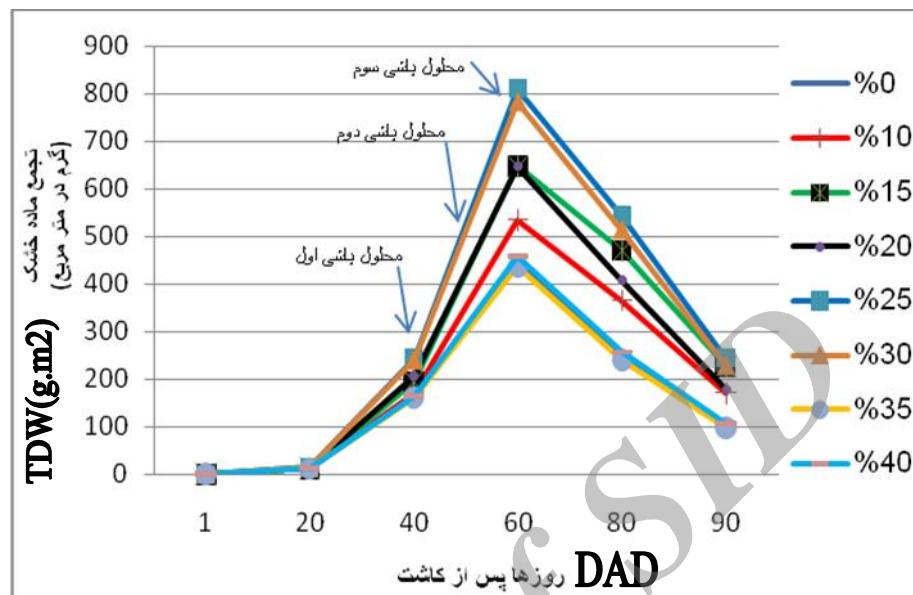
در این مطالعه روند تغییرات وزن خشک بر اساس تاثیر محلول پاشی متانول مورد ارزیابی قرار گرفت. تغییرات ماده خشک در ابتدای رشد روند افزایشی داشت و این روند تا ۶۰ روز پس از کاشت ادامه یافت و پس از آن روند نزولی به خود گرفت. الگوی تجمع وزن خشک در این مطالعه با بسیاری از مطالعات مشابه در مورد حبوبات و دانه‌های روغنی Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004. تجمع ماده خشک کل حاصل از ۶ مرحله نمونهبرداری برای تیمارهای متانول در شکل (۱) نمایش داده شده است. از ابتدای نمونهبرداری تا زمان قبل از محلولپاشی اول تفاوتی بین تجمع ماده خشک در تیمارهای مختلف متانول مشاهده نشد، اما از ۵۵ روز پس از کاشت و پس از انجام دومین مرحله محلولپاشی، تفاوت‌های زیادی بین تجمع ماده

محلول‌پاشی بوته‌های لوبیا با محلول‌های ۲۰ تا ۳۰ درصد حجمی مтанول، چنین اتفاقی در سطح برگ‌های این گیاه نیز رخ داده باشد. زیرا گزارش شده است که این باکتری‌ها بر روی سطح برگ‌های گیاه Gout *et al.*, 2000) نیز به تعداد زیاد وجود دارند (ویشگاهی و همکاران (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007; Nonomiora and Benson, 1992; Makhidum *et al.*, 2002; Ramirez *et al.*, 2006 نیز مطابقت می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش نشان داد که پارامترهای عملکرد دانه، محتوای کلروفیل، محتوای آب نسبی سلول تحت تیمارهای مтанول قرار رفتند. محلول‌پاشی گیاه لوبیا با غلظت‌های ۰٪، ۲۵٪ و ۳۰٪ حجمی مтанول باعث افزایش در میزان عملکرد دانه تولید شده در هکتار و محتوای کلروفیل و محتوای آب نسبی سلول آن گردید. غلظت ۳۰٪ حجمی و بالاتر در این آزمایش موجب گیاه سوزی و کاهش عملکرد دانه، درصد پروتئین، محتوای کلروفیل، محتوای آب نسبی سلول و در پی آن کاهش میزان این پارامترها گردید، لذا مصرف این ماده در این غلظت‌ها برای گیاه لوبیا نمی‌تواند مفید باشد.

(Ramirez *et al.*, 2006; Madhaiyan *et al.*, 2006 به عبارت دیگر مصرف مtanول می‌تواند روند افزایش وزن تر و وزن خشک گیاهان را تحریک کند و ارتباط نزدیکی بین مقدار افزایش وزن خشک گیاهان با مقدار مtanول مصرف شده بر روی آنها وجود دارد (Zbice *et al.*, 2003). محلول‌پاشی مtanول و نیز مخلوطی از الکل‌های آلیفاتیک سرعت فتوسنتز و فعالیت PEPکربوکسیلاز را طی این دوره در گیاه بادام‌زمینی افزایش داده و باعث افزایش تولید ماده خشک در این گیاه شد (Safarazade Vishgahi *et al.*, 2007 بررسی‌های انجام گرفته توسط ثیودوریدو و همکاران (Theodoridou *et al.*, 2002) نیز نشان داد که اثر مtanول بر روی سیستم فتوسنتزی گیاه همانند اثر افزایش غلظت CO_2 در اطراف گیاه می‌باشد. بررسی‌های این محققین نشان داد که با مصرف مtanول اندازه آتن فتوسیستم‌ها (LHC) در مقایسه با مرکز واکنش آنها کاهش می‌یابد که این کاهش ناشی از کم شدن مقدار کل کلروفیل و نیز کاهش مقدار کل پروتئین‌های آتن فتوسیستم‌ها می‌باشد. کاهش اندازه آتن فتوسیستم‌ها باعث زیاد شدن سرعت فتوسنتز و سرعت تنفس در گیاه شده و این امر تولید ماده خشک را افزایش می‌دهد (Rajala *et al.*, 1998). به این ترتیب به نظر می‌رسد در اثر



$$\begin{aligned} \text{TDW M0} &= \text{EXP} (-1/69 + 0/25x - 0/002x^2) \\ \text{TDW M2} &= \text{EXP} (-1/68 + 0/25x - 0/0019x^2) \\ \text{TDW M4} &= \text{EXP} (-1/7 + 0/26x - 0/0002x^2) \\ \text{TDW M6} &= \text{EXP} (-1/72 + 0/25x - 0/002x^2) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{TDW M1} &= \text{EXP} (-1/69 + 0/25x - 0/002x^2) \\ \text{TDW M3} &= \text{EXP} (-1/74 + 0/25x - 0/0019x^2) \\ \text{TDW M5} &= \text{EXP} (-1/67 + 0/25x - 0/002x^2) \\ \text{TDW M7} &= \text{EXP} (-1/73 + 0/25x - 0/002x^2) \end{aligned}$$

شکل ۱- تاثیر محلول پاشی مтанول بر وزن خشک کل

Figure 1- Effect of methanol spraying on TDW

جدول ۱- تجزیه واریانس محتوی کلروفیل برگ (CHL)، محتوای آب نسبی برگ (RWC)، عملکرد دانه (GY)

Table 1-Mean squares of grain yield, Relative Water Content (RWC) and chlorophyll concentration (Chl.ab) of bean

SOV	Mean Squares													
	محلول پاشی سوم				محلول پاشی دوم				محلول پاشی اول					
	methanol After 3		methanol Before 3		After methanol 2		Before methanol 2		After methanol 1		Before methanol 1			
	CHL6	RWC6	CHL5	RWC5	CHL4	RWC4	CHL3	RWC3	CHL2	RWC2	CHL1	RWC1	Pro	GY
B	1302.96ns	18.71ns	429.70ns	51.07ns	1634.27ns	105.52ns	441.06ns	21.78ns	14071.37*	43.99ns	3415.67ns	21.07ns	31.49ns	93870.63ns
T	4201.06**	251.74**	2486.53*	290.79*	4143.27**	104.77**	1631.70ns	80.58ns	1267.01ns	221.69ns	2034.29ns	99.73ns	36.18*	398176.06*
E	421.88	46.40	840.60	115.61	633.05	37.02	1520.32	75.08	1230.14	229.78	5179.40	111.25	12.92	120356.93
CV	7.01	10.30	11.25	15.87	9.05	8.52	15.61	15.76	13.16	25.54	29.85	19.86	14.82	16.51

ns, * and **: non significant and significant at 5% and 1% levels of probability, respectively . ns: بهتر ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۲- مقایسه میانگین محتوی کلروفیل برگ (CHL)، محتوای آب نسبی برگ (RWC)، عملکرد دانه (GY)

Table 2- Means grain yield and leaf Relative Water Content (RWC) and chlorophyll content in various concentration of methanol

سطوح متانول	محلول پاشی سوم				محلول پاشی دوم				محلول پاشی اول					
	After methanol 3 (mg m ⁻²)	RWC6 (%)	Before methanol 3 (mg m ⁻²)	CHL5 (%)	After methanol 2 (mg m ⁻²)	RWC4 (%)	Before methanol 2 (mg m ⁻²)	CHL3 (%)	After methanol 1 (mg m ⁻²)	RWC2 (%)	Before methanol 1 (mg m ⁻²)	CHL1 (%)	Pro (%)	GY (kg ha ⁻¹)
شاهد	291.10bc	55.98c	215.28b	61.22bc	273.61ab	66.81bc	235.40a	51.80a	261.96ab	57.23ab	231.12a	50.76a	22.8AB	1935.3bc
10%	261.96cd	56.97c	251.26ab	59.33bc	279.44a	68.64abc	251.39a	55.35a	267.78ab	62.20a	250.09a	54.84a	24.2AB	1962.7abc
15%	253.21d	69.05ab	258.13ab	74.07abc	276.53ab	73.31abc	279.89a	61.69a	288.19a	75.12ab	291.81a	61.01a	23.0AB	2018.5abc
20%	337.74a	70.80ab	280.64a	67.50abc	317.33a	78.67a	247.78a	54.55a	273.61ab	57.03ab	234.91a	51.52a	28.5A	2563.3a
25%	343.57a	74.44ab	284.64a	75.47ab	317.33a	76.71ab	289.30a	63.78a	285.27a	66.86ab	238.71a	61.94a	27.8A	2503.0ab
30%	326.08ab	80.46a	293.31a	84.99a	308.59a	77.58a	237.64a	52.30a	264.87ab	55.00ab	257.67a	50.43a	28.8A	2471.7ab
35%	267.78cd	64.66bc	257.21ab	63.66bc	232.81bc	65.03c	223.67a	49.19a	267.78ab	47.24b	212.15a	47.99a	22.7AB	1709.2c
40%	261.96cd	56.45c	219.74b	55.45c	218.24c	64.16c	232.55a	51.17a	221.15b	54.03ab	212.15a	46.20a	18.3B	1643.3c

میانگین های متعلق در هر کدام از صفاتی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت معنی دار بر اساس آزمون دانکن مربوطه در سطح احتمال ۰/۰۵ باشند

Mean followed by similar letters in each column are not significant by different at 5 % levels.

References

منابع مورد استفاده

- Araus, J.L., T. Amaro, J. Voltas, H. Nakkoul, and M.M. Nachit. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research.* 55: 209-223.
- Ahmadi, A., and A. Ceiocemardeh. 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and proline in four adopted wheat cultivars with various climates of Iran. *Iranian J. Agric. Sci.* 35: 753-763. (In Persian).
- Castrillo, M., and I. Trujillo. 1994. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity, chlorophyll and protein content in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetic.* 30: 175-181.
- Flageaa, Z., B. Pastore, R.G. Campanile, and N. Di Fonzo. 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drought tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars. *J. Agric. Sci. Cambridge.* 122(2): 183-192.
- Fall, R., and A.A. Benson. 1996. Leaf methanol. *Trends Sci.* 296-301.
- Gout, E., S. Aubert, R. Bligny, F. Rebeille, and A.R. Nonomura. 2000. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Plant Physiol.* 123: 287- 296.
- Jabari, F., K. Postini, and A. Ahmadi. 2006. Effect of relation activity enzymes antioxidant on chlorophyll content and cell membrane stability of wheat cultivars. *Iranian J. Agric. Sci.* 37: 307-316. (In Persian).
- Ivanova. EG., N.V. Dornina, and Y.A. Trotsenko. 2001. Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. *Microbiol.* 70:392-397.
- Liang, J., J. Zhang, and M. Woog. 1997. Can stomatal closure caused by xylem ABA explain the inhibition of leaf photosynthesis under soil drying? *Photosynthesis Research.* 51: 149-159.
- Li, Y., J. Gupta, and A.K. Siyumbano. 1995. Effect of methanol on soybean photosynthesis and chlorophyll. *J. Plant Nutr.* 18: 1875-1880.
- Larsson, E.H., J.F. Bornman, and H. Asp. 1998. Influence of UV-B radiation and CO₂ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *Journal of Experimental Botany.* 149(323): 1031-1039.
- Moffatt, J.M., R.G. Sears, and G.M. Paujsen. 1990. Wheat high temperature tolerance during reproductive growth: I. Evaluation by chlorophyll fluorescence. *Crop Sci.* 30(4): 881-885.
- Makhdum, M.I., M.N.A. Malik, S.U. Din, F. Ahmad, and F.I. Chaudhry. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. *J. Res. Sci.* 13: 37-43.
- Nonomura, A.M., and A.A. Benson. 1992. The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 9794-9798.

- Paknejad, F., M. Nasri, H.R. Tohidi Moghadam, H. Zahedi, and M. Jami Alahmad. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *Journal of Biological Sciences*. 7(6): 841-847.
- Por mousavi, M., M. Galavi, J. Danshiyan, A. Ghanbari, and N. Basirani. 2007. Effects of drought stress and manure on leaf relative water content, cell membrane stability and leaf chlorophyll content in soybean (*Glycine max*). *J. Agric. Sci. Nat. Resour.* 60: 125-134. (In Persian).
- Ramberg, H.A., J.S.C. Bradley, J.S.C. Olson, J.N. Nishio, J. Markwell, and J.C. Osterman. 2002. The role of methanol in promoting plant growth: An update. *Rev. Plant Biochem. Biotechnol.* 1: 113-126.
- Ramirez, I., F. Dorta, V. Espinoza, E. Jimenez, A. Mercado, and H. Pena-Cortes. 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco and tomato plants. *J. Plant Growth Regul.* 25: 30-44
- Rajala, A., J. Karkkainen, J. Peltonen, and P. Peltonen-sainio. 1998. Foliar application of alcohols failed to enhance growth and yield of C₃ crops. *Ind. Crop. Prod.* 7: 129-137.
- Safarazade Vishgahi, M.N., G. Nourmohamadi, and I. Magidi. 2007. Effect of methanol on peanut function and yield components. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*. 33: 88-103. (In Persian).
- Samimi, N., J. Saba, and F. Shekari. 2007. Uesing of physiological treats under drought stress wheat cultivars with various. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*. 37: 307-314. (In Persian).
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2001. *Plant Physiology*. Sinuate Associate Publisher.
- Theodoridou, A., D. Dornemann, and K. Kotzabasis. 2002. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. *Biochim. Biophys. Acta*. 1573: 189-198.
- Zbiec, I., S. Karczmarczyk, and C. Podsiad. 2003. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Elec. J. Polish Agri. Uni. Agronomy*. 6(1): 1-7.