



## تأثیر متانول بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای لوبیا (*Phaseolus vulgaris* cv. COS16) در شرایط تنش خشکی

نظام آرمنده<sup>۱</sup>، حمزه امیری<sup>۲\*</sup>، احمد اسماعیلی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان.

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان. ۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۱/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۱۳

### چکیده

به منظور بررسی اثرات متانول (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) و تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ (۰، ۳۰ و ۶۰- بار) بر شاخص‌های جوانه‌زنی لوبیا (رقم COS16) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در تابستان سال ۱۳۹۳ در دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهیمن انجام شد. کشت بذرها در پتری دیش انجام شد و سپس بذرها در داخل ژرمیناتور تحت شرایط کنترل شده با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در تمامی سطوح تنش خشکی، مصرف سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول منجر به کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی لوبیا شد. اعمال تنش خشکی ۶- بار منجر به کاهش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، سطح ریشه‌چه و آندوسپرم مصرفی در مقایسه با تیمار بدون تنش شد. در مجموع، نتایج پژوهش کنونی نشان داد که کاربرد متانول در مرحله جوانه‌زنی نه تنها در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی نقشی نداشت، بلکه در شرایط بدون تنش خشکی نیز بر شاخص‌های جوانه‌زنی لوبیا اثر منفی بر جا گذاشت.

واژه‌های کلیدی: آندوسپرم مصرفی، تنش آبی، خصوصیات ریشه‌چه، سرعت جوانه‌زنی.

### مقدمه

(Bibi et al., 2009). نتایج برخی بررسی‌ها نشان داده است که چنانچه جوانه‌زنی بذر در شرایط مناسبی انجام شود، رشد گیاه بهتر شده و پوشش گیاهی مطلوبی برای تولید مواد فتوسنتزی در گیاه، ایجاد می‌شود. (Rahbarian et al., 2012).

کیفیت جوانه‌زنی بذر تأثیرات قابل‌توجهی بر صفات رشدی گیاه در مراحل بعد از جوانه‌زنی، اشغال آشیان‌های اکولوژیکی و محدوده جغرافیایی گیاه دارد (Donohue et al., 2010). میزان فراهمی آب یکی از عوامل اصلی مؤثر بر جوانه‌زنی بذر است. قابلیت دسترسی به آب با کاهش پتانسیل اسمزی ناشی از تنش خشکی کم می‌شود (Gamze et al., 2005). بر این اساس، در مناطق خشک و

لوبیا با داشتن ۲۲ تا ۲۵ درصد پروتئین و ۵۶ تا ۵۸ درصد کربوهیدرات در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از منابع مهم پروتئین گیاهی محسوب می‌شود. سطح زیر کشت این گیاه در دنیا بالغ بر ۲۷/۳ میلیون هکتار با متوسط عملکرد حدود ۶۶۰ کیلوگرم در هکتار است. در ایران سطح زیر کشت لوبیا حدود ۲۴۰ هزار هکتار با عملکرد متوسط ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (Bagheri et al., 2001). در بسیاری از گیاهان مراحل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نسبت به شرایط محیطی حساس‌تر از سایر مراحل رشد می‌باشند (Masoumi et al., 2008). جوانه‌زنی یک مرحله مهم در چرخه زندگی گیاه است و می‌تواند تأثیر بسزایی در میزان تولید و عملکرد گیاهان داشته باشد.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات احتمالی متانول بر بهبود تحمل به خشکی لوبیا در مرحله جوانه‌زنی آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان انجام شد. فاکتورهای موردبررسی شامل سطوح مختلف محلول متانول شامل شاهد (بدون متانول)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی و نیز سه سطح تنش خشکی (۰، ۳- و ۶- بار) بودند. تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طبق معادله میچل و کافمن (Michael and Kaufman, 1976) اعمال شد (جدول ۱). برای پتانسیل آب صفر بار (شاهد) از آب مقطر استفاده شد. بذور مورد استفاده در این تحقیق در سال ۱۳۹۳ از ایستگاه ملی تحقیقات لوبیای شهرستان خمین تهیه شد. قبل از شروع آزمایش مجموعه پتری‌دیش‌ها و بستر بذر (کاغذ واتمن) در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت استریل شدند. همچنین بذور مورد استفاده به مدت ۳۰ ثانیه با قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۲ در هزار ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. تعداد ۲۰ عدد بذر بر روی کاغذ صافی واتمن شماره ۲ در داخل هر پتری‌دیش قرار گرفت. برای اعمال سطوح مختلف تنش خشکی و نیز غلظت‌های مختلف متانول، مقدار ۸ میلی‌لیتر از محلول موردنظر به هر پتری‌دیش اضافه گردید. در مرحله بعد پتری‌دیش‌ها به‌منظور رعایت شرایط استاندارد در اثر تبخیر محلول موردنظر روزانه توزین شده و در صورت کمبود، طبق تیمارهای آزمایشی محلول موردنظر اضافه شد و سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد و در تاریکی در داخل ژرمیناتور قرار داده شدند. بازدید از نمونه‌ها به‌طور روزانه یک‌بار و به مدت ۱۴ روز انجام شد و در هر بازدید تعداد بذره‌های جوانه‌زده (دارای طول ریشه‌چه ۳ میلی‌متر) ثبت شدند.

در روز پایانی آزمایش، ریشه‌چه‌ها و ساقه‌چه‌ها از بذور جدا شدند و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه به‌وسیله خط کش اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین وزن خشک اندام‌های فوق، ساقه‌چه‌ها و ریشه‌چه‌ها در آون دارای دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و سپس با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند. به‌منظور اندازه‌گیری سطح ریشه، ریشه‌چه‌ها به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در محلول بنفش‌رنگ پرمنگنات منیزیم قرار گرفتند. پس از مشاهده

نیمه‌خشک هرگونه عملیات زراعی که موجب تسریع جوانه‌زنی و سبز شدن بذر شود، عملکرد دانه را افزایش خواهد داد (Gan et al., 2002). گزارش شده است که جوانه‌زنی بذره‌های حبوبات از جمله لوبیا تحت تأثیر مستقیم شرایط نامطلوب محیطی مانند تنش‌های خشکی و شوری قرار دارد (Bagheri et al., 2001; Hosseinzadeh et al., 2016). در مراحل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای، تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی گیاه از جمله طول ساقه و ریشه، وزن خشک ساقه و ریشه و همچنین سرعت سبز شدن گیاهچه‌ها دارد (Masoumi et al., 2008). در بسیاری از تحقیقات اثرات منفی تنش خشکی بر شاخص‌های جوانه‌زنی گزارش شده است (Rahbarian et al., 2012; Ahmadpour et al., 2015).

در تحقیقات مختلفی، کاربرد متانول به‌عنوان یک منبع کربن برای بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی در شرایط تنش خشکی توصیه شده است (Ahmadpour et al., 2000; Gout et al., 2016). گیاهان می‌توانند متانول محلول‌پاشی شده بر روی برگ‌ها را به‌راحتی جذب کرده و آن را به‌عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Hosseinzadeh et al., 2013; Downie et al., 2004). متانول در گیاهان عالی به‌آسانی با اتصال به گروه‌های متیل می‌تواند تبدیل به مولکول‌هایی مثل سرین، متیونین و فسفاتیدیل کولین شود (Nadali et al., 2010). کاربرد خارجی متانول به‌طور مستقیم با فرآیندهای متابولیکی رشد و نمو گیاه و همچنین با فرآیندهای مرتبط با مکانیسم‌های دفاعی از قبیل فعال شدن ژن‌های درگیر در بیوسنتز اسید جاسمونیک مرتبط است (Hosseinzadeh et al., 2011). برخی مطالعات نشان داده‌اند که مصرف متانول می‌تواند کارایی جذب عناصر غذایی را به‌خصوص در شرایط مواجهه گیاه با تنش‌های محیطی بهبود بخشد (Downie et al., 2004).

با توجه به اینکه گزارش‌های متعددی در ارتباط با تأثیر مثبت متانول بر فاز رویشی گیاهان در ایران وجود دارد، با این‌وجود مطالعات اندکی در زمینه اثر متانول بر شاخص‌های جوانه‌زنی وجود دارد. هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر متانول بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذره‌های لوبیا (رقم COS16) تحت تنش خشکی می‌باشد.

$$Gp\% = \sum \frac{n_i}{N} \times 100 \quad [1]$$

$$GS = \sum \frac{ni}{Di} \quad [2]$$

در معادله‌های فوق GP درصد جوانه‌زنی، ni تعداد بذرها، Di جوانه‌زده در هر بار شمارش، N تعداد کل بذرها، تعداد روز پس از آغاز آزمایش و GS سرعت جوانه‌زنی است. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mstat-C انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۱ درصد ( $P \leq 0.01$ ) استفاده شد.

تغییر رنگ، ریشه‌چه‌ها از محلول خارج شده و سپس توسط دستمال کاغذی کاملاً خشک شدند. در نهایت سطح ریشه‌چه با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری صفات مربوط به ریشه با (WinRHIZO Pro V) ساخت کانادا اندازه‌گیری شد (Regent, Instruments Inc., QC, Canada). افزون بر این، برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از معادله (۱) و جهت تعیین سرعت جوانه‌زنی ( $\text{day}^{-1}$ ) از معادله (۲) (Agrawal, 1991) استفاده شد. میزان آندوسپرم مصرفی بذرها نیز از طریق محاسبه اختلاف وزن بذور قبل از اجرای آزمایش و وزن خشک بقایای بذور بعد از مرحله جوانه‌زنی محاسبه شد (Rahbarian et al., 2012).

جدول ۱. نحوه ایجاد پتانسیل خشکی در هر واحد آزمایشی.

Table 1. Formation of dry potential in unit experiment.

پلی اتیلن گلایکول PEG 6000	مقدار محلول Solution volume	نوع محلول (پتانسیل خشکی) Potential of solution
55.2 g	400 ml	-3 Bar
75.6 g	400 ml	-6 Bar

## نتایج و بحث

### درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متانول و سطوح متفاوت تنش خشکی بر درصد نهایی جوانه‌زنی بذرها لوبیا معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). نتایج مقایسه میانگین‌های برهم-کنش متانول و تنش خشکی نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی بیشترین میزان درصد جوانه‌زنی (۸۰ درصد) متعلق به تیمار عدم مصرف متانول و کمترین میزان این صفت با ۱/۶ درصد مربوط به سطح ۳۰ درصد متانول بود. در شرایط تنش ۶- و ۹- نیز مصرف سطوح مختلف متانول باعث کاهش معنی‌دار مقدار این صفت نسبت به تیمار شاهد شدند (شکل ۱). متانول به‌عنوان یکی از ترکیبات مؤثر بر بهبود شاخص‌های رویشی گیاهان به شمار می‌آید (Hosseinzadeh et al., 2013). با این‌وجود، الکل‌هایی مثل متانول و اتانول دارای اثرات متنوع بر روی جوانه‌زنی گیاهان می‌باشند (Nonomura and Benson, 1997). در مطالعه‌ای که بر روی برخی گیاهان از قبیل پیاز، هویج و گوجه‌فرنگی صورت گرفت، گزارش شد که اعمال تیمار اتانول منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی در بذرها این

گیاهان شد. در این پژوهش علت کاهش میزان جوانه‌زنی به تأثیر الکل بر ساختار لیپیدی غشا و اثر آن بر شکل فضایی پروتئین‌های غشایی نسبت داده شد (Albrecht, 1995). با این‌وجود، در مطالعه‌ای بر روی گیاه شنبلیله مشاهده شد که متانول منجر به افزایش معنی‌دار برخی صفات جوانه‌زنی از قبیل درصد جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه و نیز وزن خشک ساقچه‌چه و ریشه‌چه شد (Mehrafarin et al., 2011). در مطالعه کنونی متانول منجر به کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی لوبیا در تمامی سطوح تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد شد.

تنش خشکی موجب کاهش درصد جوانه‌زنی لوبیا شد (شکل ۱). سرعت و درصد جوانه‌زنی از شاخص‌های ارزیابی تحمل به تنش خشکی محسوب می‌شوند، به‌طوری‌که ارقام دارای سرعت و درصد جوانه‌زنی بالاتر در شرایط تنش، از شانس بیشتری برای رشد برخوردار هستند (Rahbarian et al., 2012). در پژوهشی بر روی پاسخ جوانه‌زنی نخود به تنش خشکی مشاهده شد که کاهش پتانسیل آب به میزان کمتر از ۳- بار، جذب آب را در این گیاه کاهش داده و فرایند جوانه‌زنی را به تأخیر انداخت (Auld et al., 1988).

استفاده از تیمارهای الکلی در کاهش تقسیم سلولی نیز نقش دارند (Liga et al., 2003). کاهش در تقسیم سلولی با کاهش در فعالیت هورمون جیبرلین ارتباط مستقیم دارد (David, 2010). در مطالعه‌ای که بر روی شکست خواب بذرهاى گونه‌های *Albizia* صورت گرفت، گزارش کردند بذرهایی که با متانول، اتانول و اسیدسولفوریک تیمار شده بودند با کاهش میزان هورمون ژیبیرلین روبه‌رو شدند و در نتیجه این تیمارها در شکست خواب بذر ناموفق بودند (Tigabu and oden, 2001). با توجه به نتایج، کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها را می‌توان با کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز مرتبط دانست. به عبارتی کاهش جذب آب و متعاقب آن کاهش فعالیت‌های آنزیمی مربوط به فرایندهای بیوشیمیایی جوانه‌زنی، علت اصلی کاهش سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی است (Rahbarian et al., 2012).

**طول ساقه‌چه** نتایج نشان داد که متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر طول ساقه‌چه دانه رسته‌های لوبیا داشت (جدول ۲). شکل ۳ نشان می‌دهد که در اثرات برهم‌کنش متانول و تنش خشکی در شرایط بدون تنش، سطح شاهد با ۱۴/۸۷ میلی‌متر بیشترین میزان طول ساقه‌چه را داشت که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشت اما سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد متانول در این شرایط منجر به کاهش معنی‌دار این صفت شد. در شرایط تنش ۳- و ۶- بار تمامی سطوح کاربرد متانول در مقایسه با سطوح شاهد طول ساقه‌چه کاهش معنی‌داری داشت. کاهش رشد ساقه‌چه تحت اثر تنش کم‌آبی، به دلیل کاهش جذب آب توسط بذر و به دنبال آن کاهش انتقال مواد غذایی موردنیاز برای رشد، به محور زیر لپه می‌باشد (Masoumi et al., 2008). علاوه بر آن مشخص شده است که کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه شامل ریشه‌چه و ساقه-چه می‌شود (Kafi et al., 2005). در آزمایشی علت کاهش رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه در ژنوتیپ‌های نخود تحت شرایط تنش خشکی کاهش سرعت فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر گزارش شد (Bibi et al., 2009). در این مطالعه نیز کاهش طول ساقه‌چه در سطوح مختلف تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش مشاهده شد. در ارتباط با اثرات متانول بر جوانه‌زنی برخی از گیاهان زراعی مشخص

در مطالعه کنونی نیز کاهش پتانسیل آب منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی در لوبیا شد. محققان علت کاهش درصد نهایی جوانه‌زنی گیاهان را در شرایط تنش خشکی به کاهش فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی بذر تحت تأثیر کاهش جذب آب توسط بذر نسبت داده‌اند (De and kar, 1994). کاهش درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش خشکی در بررسی بر روی نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) نیز گزارش شده است (Gamze et al., 2005).

**سرعت جوانه‌زنی** نتایج جدول ۲ نشان داد که اثر متانول و تنش خشکی بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار است ( $P \leq 0.01$ ). مقایسه میانگین داده‌ها در برهم‌کنش متانول و تنش خشکی نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی سطوح متانول در یک گروه آماری و سطح شاهد در گروه جداگانه قرار گرفت به طوری که سطوح متانول منجر به کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی نسبت به سطح شاهد شد. در شرایط تنش ۳- و ۶- نیز سطوح متانول منجر به کاهش شدید سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۲). مطالعات نشان داده است زمانی که جذب آب توسط بذر مختل شود، سرعت انجام فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی در داخل بذر کاهش یافته و در نتیجه مدت‌زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر افزایش و سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Fabian et al., 2008). زنگ و همکاران (Zeng et al., 2010) کاهش جوانه‌زنی به دلیل محدودیت آب را یک راهکار تکاملی در گیاهان مناطق خشک می‌دانند. در واقع کاهش جوانه‌زنی در تنش‌های خشکی، یک راه‌کار سازشی است تا زمانی که شرایط مساعدی برای جوانه‌زنی ایجاد شود. در این ارتباط در تحقیقی بر روی ژنوتیپ‌های عدس گزارش کردند که شاخص‌های جوانه‌زنی از قبیل سرعت و درصد جوانه‌زنی تحت تنش خشکی کاهش یافت (Kafi et al., 2005). برخی مطالعات گزارش کردند که استفاده از تیمارهای الکلی از قبیل اتانول منجر به کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز می‌شود (Albrecht, 1995). آنزیم آلفا آمیلاز در شکسته شدن قندها و نشاسته بذر نقش داشته و آن‌ها را به مواد قابل‌استفاده جنین تبدیل می‌کند بنابراین در جوانه‌زنی این آنزیم نقش مهمی دارد (Fabian et al., 2008). در آزمایشی گزارش شد که اتانول منجر به کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و در نهایت منجر به کاهش فعالیت آلفا آمیلاز می‌شود (David, 2010). از طرف دیگر

شد استفاده از متانول در سطوح بالاتر از ۱۰ درصد حجمی منجر به کاهش معنی‌دار خصوصیات جوانه‌زنی از قبیل رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌شود (Ramberg et al., 2002). در این مطالعه محققان کاهش رشد را به کاهش فعالیت تقسیم سلولی در بذر و سمیت متانول نسبت دادند (Ramberg et al., 2002). در مطالعه‌ای بر روی سیب‌زمینی مشاهده شد که در غلظت ۵ درصد حجمی اتانول رشد بافت کالوس به علت کاهش شدید در تقسیم سلولی متوقف شد (Liga et al., 2003). نتایج این مطالعه نیز با نتایج این محققان مطابقت داشت.

**وزن خشک ریشه‌چه** تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که اثر متانول و تنش خشکی بر طول ریشه‌چه معنی‌دار است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین مشاهدات در برهم‌کنش متانول و تنش خشکی نشان داد که در تمامی سطوح تنش خشکی، سطوح متانول در مقایسه با سطح شاهد به‌صورت معنی‌داری طول ریشه‌چه را کاهش داد. با توجه به شکل ۴ مشاهده شد که تنش خشکی ۶- بار در مقایسه با تیمار بدون تنش منجر به کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه شد. مطالعات در ارتباط با اثرات تنش خشکی بر جوانه‌زنی نشان داد که با کاهش آب قابل‌دسترس گیاهان سرعت فعالیت‌های متابولیکی بذر کاهش‌یافته و منجر به کاهش طول ریشه‌چه می‌شود. این مطلب توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (Khalid et al., 2001; Gamze et al., 2005). نتایج این تحقیق با نتایج این محققان مطابقت دارد. به نظر می‌رسد علت کاهش طول ریشه‌چه در سطوح مختلف متانول نسبت به سطح شاهد را می‌توان به عوامل متعددی چون کاهش تقسیمات میتوزی در مریستم ریشه، کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالیز کننده فرآیندهای جوانه‌زنی گیاه و اختلال در جذب آب در سطوح بالای متانول و تنش خشکی اشاره کرد (Liga et al., 2003).

**وزن خشک ساقه‌چه** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ساقه‌چه بذرهای لوبیا داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین در برهم‌کنش متقابل متانول و تنش خشکی نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی طول و وزن خشک ریشه‌چه می‌شود (Pahlevani et al., 2008). با توجه به مطالعات گذشته می‌توان گفت که احتمالاً متانول با کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و اثر مستقیم بر تقسیم سلولی منجر به کاهش طول و وزن خشک ریشه‌چه می‌شود.

سطح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی کاهش معنی‌داری نسبت به سطوح شاهد و ۱۰ درصد حجمی داشت. در این شرایط سطح ۱۰ درصد حجمی با سطح شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش خشکی ۳- و ۶- بار نیز سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۵). در آزمایشی روی دانه رسته‌های گیاه لوبیا گزارش شد که رابطه مستقیمی بین میزان تجمع ماده خشک و رشد طولی ساقه‌چه گیاهان وجود دارد (Opoku et al., 1996). بنابراین کاهش وزن خشک ساقه‌چه در غلظت‌های بالای متانول و سطوح پایین‌تر پتانسیل آب را می‌توان به کاهش رشد ساقه‌چه در این سطوح نسبت داد. از مهم‌ترین دلایل کاهش وزن خشک ساقه‌چه در شرایط تنش خشکی تحرک کم مواد غذایی و انتقال کمتر آن‌ها از لپه به محور جنینی گزارش شده است (Rahbarian et al., 2012). در مطالعه بر روی نخود نیز کاهش وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در اثر اعمال تنش خشکی مشاهده شد (Khalid et al., 2001).

**تجزیه واریانس مشاهدات** نشان داد که اثر متانول و تنش خشکی بر طول ریشه‌چه معنی‌دار است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین مشاهدات در برهم‌کنش متانول و تنش خشکی نشان داد که در تمامی سطوح تنش خشکی، سطوح متانول در مقایسه با سطح شاهد به‌صورت معنی‌داری طول ریشه‌چه را کاهش داد. با توجه به شکل ۴ مشاهده شد که تنش خشکی ۶- بار در مقایسه با تیمار بدون تنش منجر به کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه شد. مطالعات در ارتباط با اثرات تنش خشکی بر جوانه‌زنی نشان داد که با کاهش آب قابل‌دسترس گیاهان سرعت فعالیت‌های متابولیکی بذر کاهش‌یافته و منجر به کاهش طول ریشه‌چه می‌شود. این مطلب توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (Khalid et al., 2001; Gamze et al., 2005). نتایج این تحقیق با نتایج این محققان مطابقت دارد. به نظر می‌رسد علت کاهش طول ریشه‌چه در سطوح مختلف متانول نسبت به سطح شاهد را می‌توان به عوامل متعددی چون کاهش تقسیمات میتوزی در مریستم ریشه، کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالیز کننده فرآیندهای جوانه‌زنی گیاه و اختلال در جذب آب در سطوح بالای متانول و تنش خشکی اشاره کرد (Liga et al., 2003).

**وزن خشک ساقه‌چه** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ساقه‌چه بذرهای لوبیا داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین در برهم‌کنش متقابل متانول و تنش خشکی نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس خصوصیات جوانه‌زنی گیاه لوبیا در سطوح مختلف متانول تحت تنش خشکی.

Table 2. Analysis of variance of germination characteristics of bean in different levels of methanol under drought stress.

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی Degree of freedom	Mean Square		میانگین مربعات	
			درصد جوانه‌زنی Germination percent	سرعت جوانه‌زنی Germination speed	طول ساقه‌چه Plumule length	طول ریشه‌چه Radicle length
Methanol	متانول	3	6732.519 **	365.444 **	250.511 **	964.526 **
Stress	تنش	2	1311.083 **	132.194 **	53.941 **	399.463 **
M×S	متانول×تنش	6	225.157 **	5.306 <sup>ns</sup>	14.288 **	36.548 *
Error	خطای آزمایش	24	21.639	9.861	1.835	10.376
CV (%)	ضریب تغییرات	-	18.86	13.15	32.06	10.27

Table 2. continued

جدول ۲. ادامه

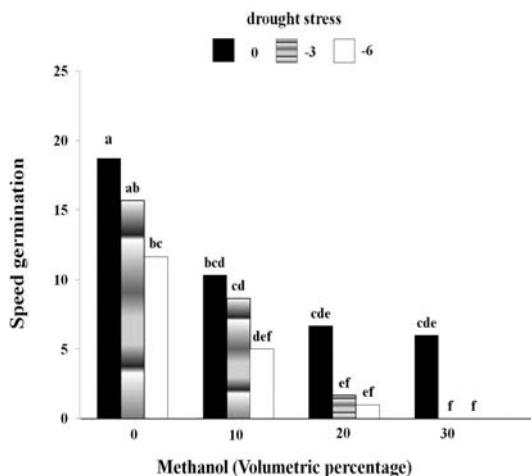
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی Degree of freedom	Mean Square		میانگین مربعات	
			وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	سطح ریشه‌چه Radicle area	آندوسپرم مصرفی Consumed endosperm
Methanol	متانول	3	438.556 **	701.741 **	0.831 **	2576.546 **
Stress	تنش	2	176.778 **	275.583 **	0.221 **	869.083 **
M×S	متانول×تنش	6	10.222 <sup>ns</sup>	26.769 <sup>ns</sup>	0.019 <sup>ns</sup>	214.269 **
Error	خطای آزمایش	24	12.278	12.083	0.007	32.056
CV (%)	ضریب تغییرات	-	15.38	10.90	27.07	33.47

<sup>ns</sup>, \*, \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

<sup>ns</sup>, \*, \*\*: non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively

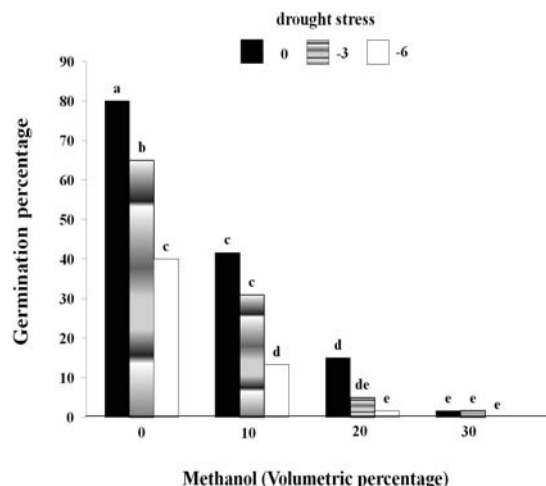
افزایش دهد (Ahmadpour et al., 2015). گزارش‌های زیادی حاکی از همبستگی مثبت و بسیار بالای طول ریشه با سطح ریشه وجود دارد (Rahbarian et al., 2012). با افزایش سطوح متانول و تنش خشکی سطح ریشه‌چه کاهش یافت که می‌توان به کاهش طول ریشه‌چه در این سطوح نسبت داد. در مطالعه بر روی ژنوتیپ‌های بذرهاى مختلف نخود مشاهده شد که در شرایط تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلاکول ۶۰۰۰ صفات ریشه‌چه از قبیل سطح، طول و قطر ریشه‌چه کاهش شدیدی داشت (Bibi et al., 2009). در این مطالعه نیز مشاهده شد که سطوح خشکی کاهش معنی‌داری نسبت به سطح شاهد داشت.

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که اثر متانول و تنش خشکی بر سطح ریشه‌چه دانه رسته‌های لوبیا در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۷) در برهم‌کنش متانول و تنش نشان داد که در تمامی سطوح تنش خشکی، سطوح متانول کاهش معنی‌داری نسبت به سطح شاهد داشت. در کلیه سطوح تنشی سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. افزایش سطح ریشه‌چه از طریق افزایش نقاط ورودی آب و عناصر غذایی و همچنین افزایش سطح جذب می‌تواند کارایی جذب آب و عناصر غذایی را



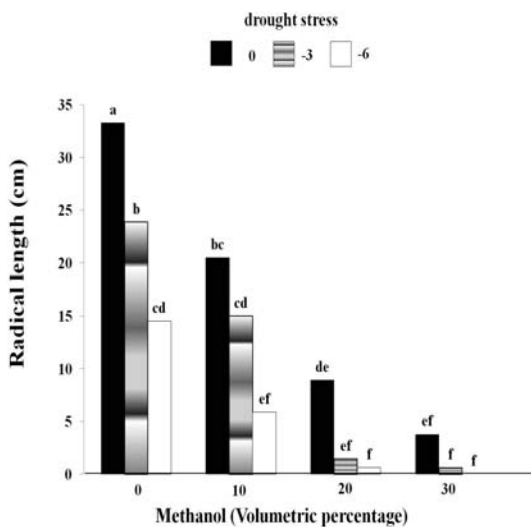
شکل ۲. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر سرعت جوانه‌زنی لوبیا

Fig. 2. The interaction effect of methanol and drought stress on speed germination.



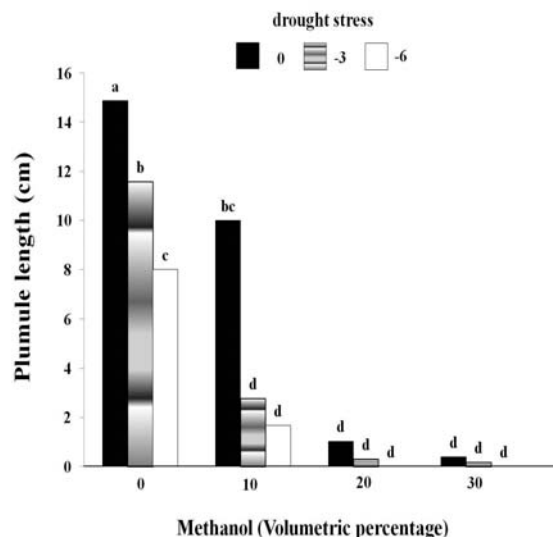
شکل ۱. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر درصد جوانه‌زنی لوبیا

Fig. 1. The interaction effect of methanol and drought stress on germination percentage.



شکل ۴. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر طول ریشه‌چه

Fig. 4. The interaction effect of methanol and drought stress on radicle length



شکل ۳. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر طول ساقه‌چه

Fig. 3. The interaction effect of methanol and drought stress on plumule length

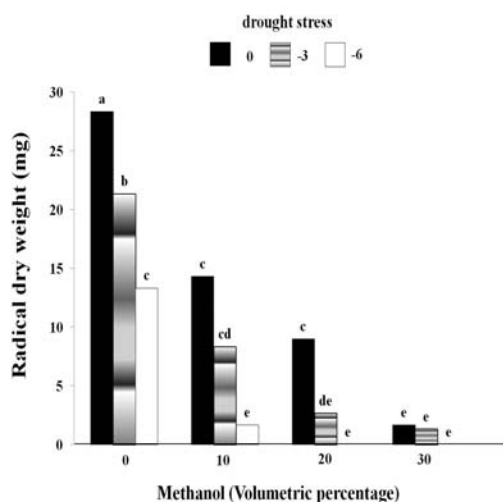
نتایج مقایسه میانگین‌ها در برهم‌کنش متقابل متانول و تنش مشاهده شد که در شرایط بدون تنش خشکی سطح بدون کاربرد متانول بیشترین میزان آندوسپرم مصرفی را داشت که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشت.

آندوسپرم مصرفی نتایج آنالیز واریانس مشاهدات (جدول ۲) نشان داد که اثر متانول و تنش خشکی بر میزان آندوسپرم مصرفی بذرهای لوبیا معنی‌دار بود. در

## نتیجه‌گیری

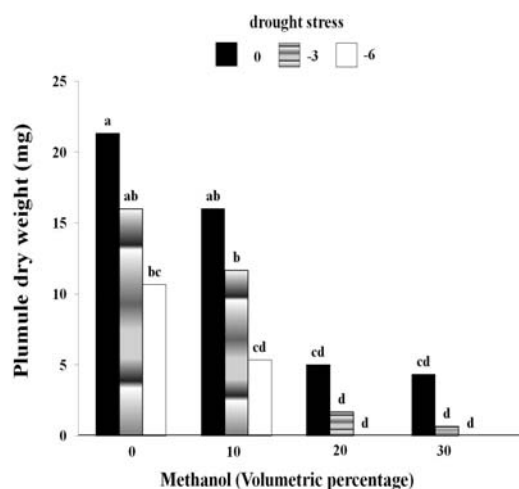
در این مطالعه نتایج نشان داد که محلول آبی متانول در تمامی تیمارهای تنش خشکی (۰، -۳ و -۶) منجر به کاهش معنی‌دار تمامی شاخص‌های موردبررسی در گیاه لوبیا شد. با توجه به تحقیقاتی که نشان می‌دهند متانول در مراحل گیاهچه‌ای و گلدهی در گیاهان مختلف باعث افزایش محصول و عملکرد می‌شود اما در مطالعه حاضر که برای اولین بار انجام شد، مشاهده شد که محلول آبی متانول علاوه بر اینکه در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی بر جوانه‌زنی گیاه لوبیا نقشی نداشت، بلکه به‌تنهایی منجر به کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی شد. با در نظر گرفتن نتایج این مطالعه می‌توان متانول را به‌عنوان یک ماده تنش‌زا برای جوانه‌زنی گیاه لوبیا معرفی کرد و پیشنهاد می‌شود که تأثیر متانول در مرحله گیاهچه‌ای گیاه لوبیا برای افزایش رشد و عملکرد این گیاه و جلوگیری از جوانه‌زنی علف‌های هرز که معمولاً در اطراف بوته‌ها مشاهده می‌شوند، نیز بررسی گردد.

متانول در این شرایط منجر به کاهش معنی‌دار این صفت شد. در شرایط تنش ۳- بار، سطوح متانول نسبت به سطح شاهد کاهش معنی‌داری داشت اما در شرایط تنش ۶- بار، سطح شاهد با سطح ۱۰ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت. سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی در تیمار تنش ۶- بار نسبت به سطح شاهد کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۸). علت افزایش آندوسپرم مصرفی در پتانسیل صفر (بدون تنش خشکی) را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که جوانه حاصل از بذر، قبل از اینکه برگ‌های اولیه آن بتوانند با استفاده از نور خورشید فتوسنتز انجام دهند از مواد غذایی ذخیره‌شده در درون بذر استفاده می‌کنند، بنابراین ظهور سریع‌تر و رشد بیشتر ساقه‌چه و ریشه‌چه در سطوح پایین خشکی می‌تواند دلیلی بر افزایش برداشت مواد غذایی از درون لپه باشد (Kafi et al., 2005). از طرفی رشد ریشه-چه و ساقه‌چه در پتانسیل‌های بالای آب بیشتر است که در نتیجه آن میزان استفاده از اندوخته لپه نیز بیشتر خواهد بود (Rahbarian et al., 2012). کاهش آندوسپرم مصرفی در سطوح متانول را می‌توان به کاهش درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه نسبت داد.



شکل ۶. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر وزن خشک ریشه‌چه

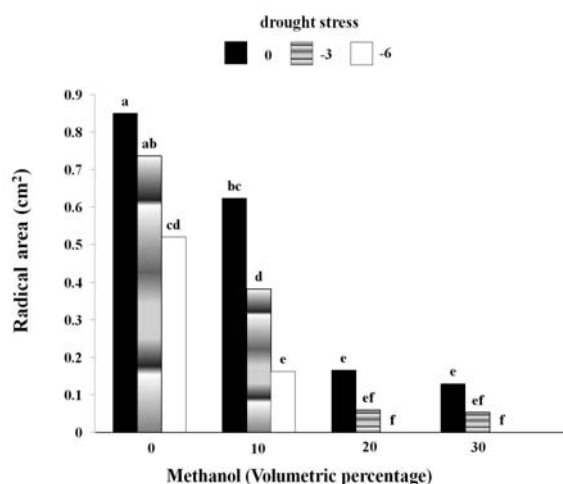
Fig. 6. The interaction effect of methanol and drought stress on radicle dry weight



شکل ۵. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر وزن خشک ساقه‌چه

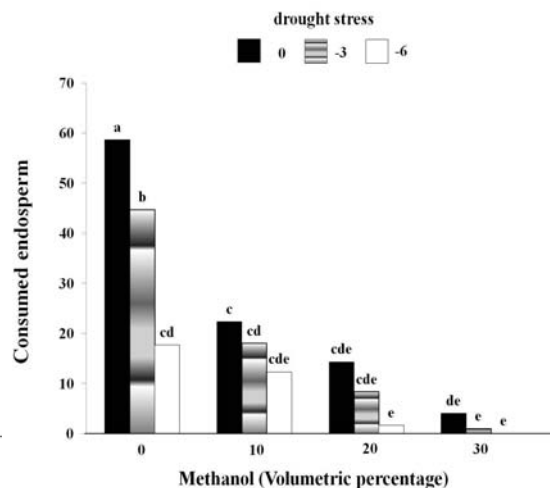
Fig. 5. The interaction effect of methanol and drought stress on plumule dry weight.





شکل ۸. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر آندوسپرم مصرفی

Fig. 8. The interaction effect of methanol and drought stress on consumed endosperm



شکل ۷. اثر برهم‌کنش متانول و تنش خشکی بر سطح ریشه‌چه

Fig. 7. The interaction effect of methanol and drought stress on radicle area

### منابع

- Agrawal, R.L., 1991. Seed Technology. Second edition, Oxford and IBH press. New York and London, 445 pp.
- Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S.R., Armand, N., 2016. Evaluation of Methanol role in reducing the negative effects of water deficit stress in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Journal of Plant Process and Function. 5 (17), 1-13. [In Persian with English Summary].
- Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S.R., Armand, N., Fani, E., 2015. Effect of methanol on germination characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under drought stress. Iranian Journal of Seed Research. 2, 83-96. [In Persian with English Summary].
- Albrecht, S.L., 1995. Effects of foliar ethanol application on crop yield. Crop Science. 35, 42-46.
- Auld, D.L., Bettis, B.L., Crock, J.E., Kephart, K.D., 1988. Planting date and temperature effects on germination, emergence, and seed yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Agriculture. 80, 909-914.
- Bagheri, A., Mahmoudi, A., Ghezeli, F., 2001. Common Bean: Research for Crop Improvement. Publications Jahad University of Mashhad. [In Persian].
- Bibi, N., Hameed, A., Ali, H., Iqbal, N., Haq, M.A., Atta, B.M., Shah, T.M., Alam, S.S., 2009. Water stress induced variations in protein profiles of germinating cotyledons from seedlings of chickpeas genotypes. Pakistan Journal of Botany. 41, 731-736.
- David, C., 2010. The effect of gibberellins (GA3 and GA47) and ethanol on seed germination of *Rosa eglanteria* and *Rosa glauca*. Journal of Plant Growth Regulation. 41, 1-10.
- De, F., Kar, R.K., 1994. Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiate*) under water stress induced by PEG-6000. Seed Science and Technology. 23, 301-304.
- Donohue, K., Rubio De Casas, R., Burghardt, L., Kovach, K., Willis, C.G., 2010.

- Germination, post germination adaptation, and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 41, 293-319.
- Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, P., Coleman, J., Parry, M., Haslam, R., 2004. Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Journal of Phytochemistry*. 65, 2305-2316.
- Fabian, A., Jager, K., Barnabas, B., 2008. Effects of drought and combined drought and heat stress on germination ability and seminal root growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Journal of Acta Biological*. 52, 157-159.
- Gamze, O.K.U., Mehmet Demir, K.A.Y., Mehmet A.T.A., 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Agriculture*. 29, 237-242.
- Gan, Y.T., Miller, P.R., Stevenson, F.C., McDonald, C.L., 2002. Seedling emergence, pod development and seed yields of chickpea and dry pea in a semi arid environment. *Canadian Journal of Plant Science*. 82, 531-553.
- Gout, E., Albert, S., Blingy, R., Rebeille, P., Nonomura, A.R., 2000. Metabolism of methanol in plant cells. *Plant Physiology*. 123, 287-296.
- Hossein-zadeh, S.R., Amiri, H., Ismaili, A., 2016. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica*. 54 (1), 87-92.
- Hossein-zadeh, S.R., Salimi, A., Ganjeali, A., 2011. Effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 4, 140-150. [In Persian with English Summary].
- Hossein-zadeh, S.R., Salimi, A., Ganjeali, A., Ahmadpour, R., 2014. Effects of foliar application of methanol on photosynthetic characteristics chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology*. 5(18), 115-132. [In Persian with English summary].
- Kafi, M., Nezami, A., Hosaini, H., Masomi, A., 2005. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 3, 69-80. [In Persian with English summary].
- Khalid, M.N., Iqbal, H.F., Tahir, A., Ahmad A.N., 2001. Germination potential of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under saline condition. *Journal of Biology Science*. 4, 395-396.
- Liga, M.V., Eraso I., Sturte, G.W., 2003. Effect of ethanol on the growth and development. *Seed Science and Technology*. 21, 427-435.
- Masoumi, A., Kafi, M., Khazaei, H.R., 2008. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) germination responses to water stress induced by polyethylenglycol 6000. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 1(2), 453-462. [In Persian with English summary].
- Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Noormohammadi, G., Zand, E., Rezazadeh, S., Qaderi, A., 2011. Effects of environmental factors and methanol on germination and emergence of Persian Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *African Journal of Agricultural Research*. 6(19), 4631-4641.
- Michael B.E., Kaufman M.R., 1976. The osmotic potential of polyethylenglycol-6000. *Plant Physiology*. 51, 914-916.
- Nadali, I., Paknejad, F., Moradi, F., Vazan, S., 2010. Effect of Methanol on Yield and Some Quality Characteristics of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) cv. Rasoul in Drought and Non-Drought Stress Conditions. *Journal of Seed and Plant Improvement*. 26, 95-108. [In Persian with English summary].
- Nonomura, A.M., Benson, A., 1997. The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *National Academy Science*. 89, 9794-9798.
- Opoku, G., Davies, F.M., Zetrio, E.V., Camble, E.E., 1996. Relationship between seed vigor and yield of white beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Plant Variety Seed*. 9, 119-125.
- Pahlevani, A., Rashed, M.H., Ghorbani, R., 2008. Effects of environmental factors on germination and emergence of Swallowwort. *Journal of Weed Technology*. 22, 303-308. [In Persian with English summary].
- Rahbarian, R., Khavari-nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A.R., Najafi, F., 2012. Drought

- stress effect on germination and seedling for drought tolerance in chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under control condition. Iranian Journal of Field Crops Research. 10(3), 522-531. [In Persian with English summary].
- Ramberg, H.A., Bradley, J.S.C., Olson, C., Nishio, J.N., Markwell, J., Osterman, J.C., 2002. The role of methanol in promoting plant growth. Plant Biochemistry and Biotechnology. 1, 113-126.
- Tigabu, M., Oden, P.C., 2001. Effect of scarification, gibberellic acid and temperature on seed germination of two *albizia* species from Ethiopia. Seed Science and Technology. 29, 11-20.
- Zeng, Y.J., Wang, Y.R., Zhang, J.M., 2010. Is reduced seed germination due to water limitation a special survival strategy used by xerophytes in arid dunes. Journal of Arid Environments. 74, 508-511.