تغییرات عملکرد دانه و موسیلاژ شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) در پاسخ به محلول‌پاشی متانول به عنوان یک محرک‌زیستی

علی مهرآفرین[1]، حسنعلی نقدی‌بادی[1*]، اردشیر قادری[1]، محمدرضا لبافی[1]، اسکندر زند[2]، قربان نورمحمدی[3]، نسرین قوامی[1]، مهدی سیف‌سهندی[1]

۱- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج، ایران
۲- عضو هیأت علمی، بخش تحقیقات علف‌های هرز، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران، ایران
۳- عضو هیأت علمی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه: مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، صندوق‌پستی: ۱۳٦۹ – ۳۱۳۷۵
تلفن: ۱۹ – ۳٤۷٦٤۰۱۰ (۰۲٦)، نمابر: ۳٤۷٦٤۰۲۱ (۰۲٦)
پست الکترونیک: Naghdibadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱٤ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۱۰/۱۰

چکیده

مقدمه: شنبلیله گیاه دارویی ارزشمندی است که مصرف دانه‌های آن در صنایع داروسازی برای تولید موسیلاژ (گالاکتومانان) و تریگونلین به لحاظ اقتصادی اهمیت زیادی دارد. محلول‌پاشی متانول به عنوان یک محرک‌زیستی بر روی گیاهان سه کربنه (C_3) مانند شنبلیله می‌تواند باعث افزایش تثبیت CO_2 و کاهش تنفس نوری شود که در نتیجه ماده خشک بیشتری در این گیاهان تولید خواهد شد.

هدف: ارزیابی تغییرات عملکرد دانه و موسیلاژ شنبلیله در پاسخ به محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بود.

روش بررسی: این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در کرج در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار محلول‌پاشی و ۳ تکرار طی دو سال زراعی اجرا شد. محلول‌پاشی در طول فصل رشد طی سه نوبت با فواصل زمانی ۱۲ روز یک‌بار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر بدون کاربرد متانول) و محلول‌پاشی آبی ٤ غلظت مختلف متانول (شامل ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤۰ درصد حجمی) بود.

نتایج: محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول تأثیر معنی‌داری بر تعداد ساقه فرعی بوته، تعداد برگ بوته، وزن خشک بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، عملکرد دانه، عملکرد موسیلاژ دانه، خاکستر دانه، شاخص تورم دانه ($p \leq ۰/۰۱$)، ارتفاع بوته و وزن هزار دانه ($p \leq ۰/۰۵$) گیاه داشت.

نتیجه‌گیری: محلول‌پاشی متانول به عنوان یک محرک‌زیستی فعال و روشی نوین در تولید گیاهان دارویی موجب بهبود عملکرد دانه و موسیلاژ دانه شنبلیله شد. به طور کلی بیشترین مقادیر برای خصوصیات مورد ارزیابی در القای تیمار محلول‌پاشی با غلظت ٤۰ درصد حجمی متانول حاصل شد.

گل‌واژگان: *Trigonella foenum-graecum* L.، عملکرد دانه، موسیلاژ دانه، متانول، محرک زیستی

مقدمه

شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-graecum* L. از خانواده بقولات (Fabacecae) و زیر خانواده Papilinonaceae است. گیاهی یک‌ساله، علفی، ایستاده، تقریباً بدون کرک، با ریشه عمودی و به ارتفاع ۵۰ – ۱۵ سانتی‌متر است. دانه‌های شنبلیله، به عنوان مهم‌ترین قسمت دارویی در گیاه دارای مصارف زیادی می‌باشد. ساپونین‌ها، ترکیبات موسیلاژی (۲۸ درصد)، آلکالوئیدها و روغن‌های ثابت حاوی اسیدهای غیراشباع (۱۰ – ٦ درصد) مواد مؤثره دارویی دانه شنبلیله را تشکیل می‌دهند. مهم‌ترین ساپوژنین‌های استروئیدی حاصل از ساپونین‌های شنبلیله شامل دیوسژنین (Diosgenin) و یاموژنین (Yamogenin) می‌باشند. تریگونلین (Trigonelline) نیز که با غلظتی تا ۰/۳٦ درصد دانه شنبلیله، آلکالوئید شاخص این گیاه محسوب می‌شود [۵ – ۱]. دانه شنبلیله به عنوان منبع مهم اقتصادی برای تولید موسیلاژ (گالاکتومانان)، تریگونلین و دیوسژنین در صنایع داروسازی اهمیت دارد [٦ – ٤]. دانه شنبلیله دارای ویژگی‌های ضددیابت، ضددرد و اثراتی از قبیل ضدسرطان، کاهش‌دهنده کلسترول و قند خون است [٤] و در طب سنتی ایران، دانه شنبلیله به عنوان تونیک و کاهنده قند خون استفاده می‌شود [۷].

افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی به دلیل افزایش جمعیت و تقاضای روز افزون صنایع داروسازی به مواد اولیه دارویی از اهمیت خاصی برخوردار است. یکی از راه‌های افزایش عملکرد، افزایش تولید ماده خشک در واحد سطح است. حدود ۹۰ درصد ماده خشک تولید شده در گیاهان سه کربنه (C_3) ناشی از تفاوت میان میزان تثبیت دی اکسیدکربن (CO_2) در فرآیند فتوسنتز و هدر رفت آن در فرآیندهای تنفس و تنفس نوری است. حدود ۲۵ درصد از کربن تثبیت شده در گیاهان سه کربنه (C_3) صرف تنفس نوری می‌شود [۸]. بنابراین یکی از راههای افزایش عملکرد گیاهان سه کربنه (C_3)، افزایش میزان فتوسنتز خالص از طریق کاهش تنفس نوری است [۱۲ – ۹].

متانول یا متیل‌الکل (CH_3OH) یک ترکیب فعال زیستی افزایش‌دهنده تثبیت دی‌اکسیدکربن (CO_2) در گیاهان سه کربنه (C_3) است، علاوه بر این می‌تواند به عنوان یک منبع غنی از کربن در برابر تنفس باشد و به این ترتیب با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن (CO_2) در گیاهان و افزایش کارآیی فتوسنتز، کمبود کربن در فرآیند فتوسنتز جبران می‌شود [۹،۱۲،۱۳]. بنابراین محلول‌پاشی متانول بر روی گیاهان گیاهان سه کربنه (C_3) به ویژه در شرایط تنفس نوری زیاد، می‌تواند بخشی از تلفات کربن تثبیت شده توسط فتوسنتز را جبران نماید که این امر منجر به افزایش فتوسنتز خالص در واحد سطح و ازدیاد تولید ماده خشک در گیاهان سه کربنه (C_3) می‌شود [۱۵، ١٤]. در گیاهان، متانول از طریق دمتیلاسیون پکتین دیواره سلولی تولید می‌شود [۱۸ – ١٦، ۱۱]. متانول تولید شده در گیاهان در آب داخل بافت‌ها و نیز برخی از بافت‌های گیاهی ذخیره شده و مقداری از آن نیز در داخل گیاهان به فرمالدئید و سپس به اسید فرمیک و در نهایت به دی‌اکسیدکربن (CO_2) تبدیل می‌شود. دی‌اکسیدکربن (CO_2) تولید شده می‌تواند بر آسیمیلاسیون کربن در گیاهان اثر بگذارد [۱۹]. گزارش‌های متعددی وجود دارند که محلول‌پاشی متانول روی گیاهان سه کربنه (C_3) در افزایش عملکرد، یکنواختی رسیدگی، کاهش اثر تنش خشکی و همچنین کم کردن نیاز آبی گیاهان مؤثر است. محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول بر روی بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) سبب افزایش شاخص سطح برگ، سرعت رشد گیاه، سر عت رشد غلاف، بازده مصرف تشعشع، افزایش عملکرد غلاف و دانه، افزایش وزن هزار دانه، افزایش تعداد غلاف رسیده و مقدار پروتئین در دانه‌ی بادام زمینی شده است [۱۱]. افزایش قابل ملاحظه‌ی رشد گندم (*Tiriticum aestivum* L.)، نخود (*Cicer arietinum* L.)، تربچه (*Raphanus sativus* L.)، گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum* L.) و بادام زمینی نیز پس از محلول‌پاشی متانول بر روی آنها گزارش شده است [۲۰]. علاوه بر این گزارش شده که کاربرد متانول باعث جلوگیری از تنفس نوری در کلروپلاست‌های اسفناج شده و همچنین باعث افزایش تشکیل ریشه در گیاه سویا می‌شود [۲۱]. هِمینگ (Hemming) و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کرده‌اند که پس از محلول‌پاشی متانول بر روی گیاهان و جذب آن توسط

بافت‌های گیاهی، غلظت این ماده در بافت‌های گیاهان افزایش یافته و بر بازده تبدیل کربن و مسیرهای متابولیکی مربوط به تبدیل کربن نیز اثر می‌گذارد [۱۹]. مطالعات نشان داده‌اند که عملکرد کمی و کیفی گیاه شنبلیله به طور معنی‌داری می‌تواند از طریق محلول‌پاشی کودها و محرک‌های رشد زیستی افزایش یابد. بنابراین این تحقیق با هدف ارزیابی تغیرات عملکرد دانه و موسیلاژ دانه گیاه دارویی شنبلیله به محلول‌پاشی سطوح مختلف غلظت متانول انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش جهت بررسی تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر عملکرد دانه و موسیلاژ گیاه دارویی شنبلیله در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در کیلومتر ۵۵ اتوبان تهران – قزوین با موقعیت جغرافیایی ۳۵ درجه و ٥٤ دقیقه و ۱۷ ثانیه شمالی و ۵۰ درجه و ۵۳ دقیقه و ۷ ثانیه شرقی با ارتفاع ١٤٦١ متر از سطح دریا در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار طی دو سال زراعی ۹۲ – ۱۳۹۱ و ۹۳ – ۱۳۹۲ اجرا شد. در طی دوره رویش گیاه در سال اول زراعی متوسط دمای هفتگی از ۲۱/۵ تا ٤۲/۷ درجه سانتی‌گراد در روز و ٦/۱ تا ۲۳/۵ درجه سانتی‌گراد در شب و نیز برای سال دوم زراعی متوسط دمای هفتگی از ۲٦ تا ٤۳/۸ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۰/۷ تا ٢٤/٦ درجه سانتی‌گراد در شب متغیر بود.

قبل از آماده‌سازی زمین از خاک مزرعه جهت تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌برداری شد (جدول شماره ۱). پس از زدن شخم، جهت خرد کردن کلوخه‌ها دو بار عملیات دیسک‌زنی صورت گرفت و در نهایت با استفاده از لولر زمین تسطیح شد. سپس کرت‌های آزمایشی با ابعاد ٦ × ۵ متر با فواصل دو متر از یکدیگر در هر تکرار ایجاد شد. همچنین ٤۰ کیلوگرم در هکتار فسفات به صورت کود سوپر فسفات تریپل در فصل پاییز به خاک اضافه شد و کود اوره نیز به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در دو تقسیط مساوی به هنگام خاک‌ورزی و همچنین یک ماه پس از کاشت به صورت سرک استفاده شد. بذرهای شنبلیله (925-MPISB) از بانک ژن پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه شد و در ردیف‌های کاشت با فواصل ۲۰ سانتی‌متر از یکدیگر و با تراکم ۵۰ بوته در هر متر مربع کشت شدند. در طول فصل کشت عملیات آبیاری، کنترل علف‌های هرز و آفات و بیماری‌ها بر اساس ضرورت و استانداردهای زراعی انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر بدون مصرف متانول) و محلول‌پاشی ٤ غلظت متانول (شامل۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤۰ درصد حجمی) بودند. جهت کاهش اثر سمیت متانول، به تمام تیمارها ۰/۲ درصد گلایسین اضافه شد و همچنین تمامی محلول‌ها دارای یک درصد سورفکتانت توین ۸۰ (Tween 80) جهت کاهش نیروی کشش سطحی بودند. محلول‌پاشی در طول فصل رشد طی سه نوبت با فواصل زمانی ۱۲ روز یک‌بار انجام شد. اولین محلول‌پاشی ۳٦ روز پس از کاشت و سایر محلول‌پاشی‌ها به ترتیب در فواصل ٤۸ و ٦۰ روز پس از کاشت صورت گرفت. حجم محلول استفاده شده در هر کرت آزمایشی معادل ۲۵۰ لیتر در هکتار یا ۰/۷۵ لیتر در هر واحد آزمایشی بود. محلول‌پاشی در بین ساعات ۱۲ الی ١٤ در شرایط بدون وزش باد انجام گرفت. پس از آخرین محلول‌پاشی در زمان رسیدگی کامل بذرها (۸۵ روز پس از کاشت) گیاهان موجود در هر کرت با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای (۵۰ سانتی‌متر از هر طرف کرت) به طور جداگانه برداشت شدند.

خصوصیات و صفات مورد ارزیابی

خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع بوته، تعداد برگ بوته، تعداد ساقه فرعی بوته، وزن خشک بوته، تعداد غلاف بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه و عملکرد دانه بودند. همچنین، صفات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده نیز شامل میزان خاکستر بذر، درصد و عملکرد موسیلاژ و شاخص تورم بود.

جدول شماره ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه تحقیقاتی در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری

هدایت الکتریکی	pH	کربن آلی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کربنات کلسیم	آهن	منگنز	مس	رس	سیلت	شن	بافت خاک
(دسی زیمنس بر متر)	-	(درصد)	(درصد)	(پی.پی.ام)	(پی.پی.ام)	(پی.پی.ام)	(پی.پی.ام)	(پی.پی.ام)	(پی.پی.ام)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	-
۰/۷۱	۷/۷٤	۰/۸۲	۰/۰۷	۸/٤	۱٦۳/٤	٤/۹۱	٤/۱	۲/۲۸	۰/۷٤	۱۸	۱۸	٦٤	لوم - ماسه‌ای

خاکستر بذر

٤ گرم دانه شنبلیله توزین شد و داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خشک شدن با توزین مجدد دانه‌ها، درصد رطوبت دانه محاسبه شد. سپس بذور را داخل بوته چینی ریخته و در دمای ٦۷۵ درجه سانتی‌گراد داخل کوره قرار داده شد تا تمامی کربن موجود در دانه‌ها از بین روند. در نهایت با توزین بقایای دانه‌های موجود در بوته چینی، درصد خاکستر محاسبه شد [۲۲].

تعیین درصد موسیلاژ دانه

۲۰۰ گرم دانه شنبلیله را به مدت ۱ ساعت در ۱/۵ لیتر آب مقطر خیسانده و سپس داخل حمام آب جوش قرار داده تا محلول لعاب‌دار تشکیل شد. پس از سردشدن محلول، آن را به مدت ۲٤ ساعت داخل یخچال قرار داده تا ترکیبات نامحلول ته‌نشین شدند. محلول به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول‌رویی جدا و در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد داخل حمام آب گرم تا یک سوم حجم اولیه تغلیظ شد. پس از سرد شدن محلول در دمای اتاق به میزان سه برابر حجم محلول به آن استن اضافه شد. جهت اندازه‌گیری مقدار موسیلاژ، رسوب حاصل پس از شستشو با استن در دمای ۵۰ تا ٦۰ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین شد. درصد وزنی موسیلاژ با توجه به تفاوت وزن کاغذ صافی قبل از صاف کردن و بعد از خشک شدن محاسبه شد. عملکرد موسیلاژ دانه نیز از فرمول زیر محاسبه شد [۲۳].

۱۰۰÷ [درصد موسیلاژ دانه × عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)] = عملکرد موسیلاژ بذر (کیلوگرم در هکتار)

شاخص تورم

یک گرم از پودر گیاه در داخل یک مزور درب‌دار مدرج ۲۵ میلی‌متری ریخته شد و توسط ۱ میلی‌متر اتانول ۹٦ درصد مرطوب و با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. یک ساعت اول به فاصله هر ده دقیقه یک‌بار، مخلوط داخل مزور به شدت تکان داده شده و پس از آن به مدت ۳ ساعت مزور در جای ساکن قرار گرفت. در صورتی که محتویات داخل مزور ته‌نشین نشود و به صورت شناور باشد می‌بایستی به مدت ۱/۵ ساعت پس از آن، مزور را در حالت ایستاده چرخاند تا محتویات آن کاملاً ته‌نشین شود. با توجه به این که موسیلاژ موجود در گیاه مورد آزمایش مقادیری از آب را جذب نموده و تغییر حجم داده است، پس از گذشت زمان آزمایش تغییر حجم مواد گیاهی داخل مزور، نسبت به شروع آزمایش تعیین شد که عدد یا حجم تورم می‌باشد [۲٤].

تجزیه و تحلیل آماری

آزمون یکنواختی واریانس آزمایش دو سال زراعی متوالی با استفاده از آزمون بارتلت انجام شد و سپس داده‌های مربوط به دو سال زراعی تجزیه مرکب (ANOVA) شد. مقایسه میانگین اثرات ساده با استفاده از آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) صورت گرفت. همچنین به منظور تعیین مهم‌ترین صفات مؤثر بر عملکرد دانه و عملکرد موسیلاژ دانه در گیاه دارویی شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی سطوح مختلف متانول، از روش تجزیه رگرسیون گام به گام (Stepwise Regression Analysis) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار رایانه‌ای SAS انجام شد.

نتایج

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اگرچه اثر سال‌های مختلف آزمایش و اثر متقابل متانول در سال بر ارتفاع بوته معنی‌دار نبود اما غلظت‌های مختلف متانول تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بر ارتفاع بوته داشتند (جدول شماره ۲). محلول‌پاشی متانول موجب افزایش ارتفاع بوته شد به طوری که کمترین میانگین ارتفاع بوته در تیمار شاهد (آب مقطر با ۲۷/۸٦ سانتی‌متر) و بیشترین میانگین آن در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (۳٤/٦۸ سانتی‌متر) حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۳۰ و ۲۰ درصد حجمی متانول نداشت (جدول شماره ۳).

تعداد ساقه فرعی بوته

اثر سال‌های مختلف آزمایش و همچنین اثر متقابل متانول در سال بر تعداد ساقه فرعی بوته معنی‌دار نبود اما غلظت‌های مختلف متانول به طور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر تعداد ساقه فرعی بوته تأثیر داشت (جدول شماره ۲). محلول‌پاشی متانول موجب افزایش تعداد ساقه فرعی بوته شد به طوری که بیشترین میانگین تعداد ساقه فرعی در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (۲/٦٦) حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (۱/۲۵)، تعداد ساقه فرعی را بیش از دو برابر افزایش داد. همچنین با افزایش سطوح متانول، تعداد ساقه فرعی بوته افزایش یافت (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲- تجزیه واریانس (ANOVA) میانگین مربعات خصوصیات مورفولوژیکی شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی D.f.	ارتفاع بوته	تعداد ساقه فرعی	تعداد برگ بوته	وزن خشک اندام هوایی	تعداد غلاف بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
سال	۱	۸/٦۹^{ns}	۰/۰۹۵^{ns}	۱/۰۹^{ns}	۳۳۲۰۰/۱^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۱/۹۹^{ns}	۳/۳۲^{ns}	٦۳۹۷/۸^{ns}
خطای سال	٤	٦۷/۸	۰/۱۳	٦/۳۹	۱۷۵۵۳	۱/۷٦	۲/٦۳	۲/٦۳	۲۷۷۷۰/٤
متانول	٤	٤۸/۷۳*	۲/۰٤**	٤۸/٦**	۲۰۱۲۷**	٤/۳۲**	۱۱/۸٤**	۸/۹٦**	۱۱٦۱۳۸**
متانول × سال	٤	۱٦/۱۷^{ns}	۰/۰۸٤^{ns}	۳/۹۸*	۱٦۷۷۹^{ns}	۰/۳۷^{ns}	۱/۳۲*	۱/۷۳*	۱٤۲۷٦^{ns}
خطای آزمایش	۱٦	۱۱/٦۱	۰/۰٤۲	۱/۳	٤۷۹۰/٤	۰/۲٦	۰/٤۹	۰/٤۹	٤۹٤۹/۵
ضریب تغییرات (CV%)	-	۱۰/۵	۱۰/٤	٦/۰٦	٤/۲	۸/۰۳	٤/٤٦	٤/۵۳	۸/۸۲

، *، **ns: به ترتیب عبارت از معنی‌دار بودن در سطح آماری ۱ و ۵ درصد احتمال و غیرمعنی‌دار بودن می‌باشد.

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف غلظت متانول بر خصوصیات مورفولوژیکی شنبلیله

درصد حجمی محلول متانول	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد ساقه فرعی	تعداد برگ بوته	وزن خشک اندام هوایی (کیلوگرم در هکتار)	تعداد غلاف در گیاه	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
۰	۲۷/۸٦^{c}	۱/۲۵^{d}	۱۵/٤۵^{c}	۱٤۳۹/۳۳^{c}	۵/۷^{c}	۱٤/۳۵^{b}	۱٤/۳۵^{c}	٦۳٤/۵^{c}
۱۰	۳۰/۰۳^{bc}	۱/۵^{c}	۱٦/۵۸^{c}	۱٤۸٤/۳^{c}	۵/۵^{c}	۱٤/٤۲^{b}	۱٤/٤۲^{c}	٦٦۹/٦۷^{c}
۲۰	۳۲/۳۸^{ab}	۲/۲^{b}	۱۸/۷٦^{b}	۱٦۸۹/۵^{b}	٦/٤^{b}	۱۵/۷۲^{b}	۱۵/۳۵^{b}	۸۲۹/۱۷^{b}
۳۰	۳٤/۰٦^{ab}	۲/۳۱^{b}	۲۱/۱٤^{a}	۱۷۹۷/۱۷^{a}	٦/۹^{ab}	۱۷/۱۳^{a}	۱٦/۷۵^{a}	۹۱۸/۱۷^{a}
٤۰	۳٤/٦۸^{a}	۲/٦٦^{a}	۲۲/۰۸^{a}	۱۸۵۱/٦۷^{a}	۷/۵^{a}	۱۷/۲۵^{a}	۱٦/۸۸^{a}	۹۳۵/۱۷^{a}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون مطابق آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

تعداد برگ بوته

تعداد برگ بوته تحت تأثیر سال‌های مختلف آزمایش قرار نگرفت. در حالی که سطوح مختلف غلظت متانول دارای اثر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر تعداد برگ بوته بود. همچنین اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف ($p\leq$۰/۰۵) بر این صفت معنی‌دار بود (جدول شماره ۲). محلول‌پاشی متانول تعداد برگ بوته را افزایش داد به طوری که بیشترین میانگین تعداد برگ در تیمار ٤٠ درصد حجمی متانول (۲۲/۰۸) حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با میانگین تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول (۲۱/۱٤) نداشت اما نسبت به میانگین تیمار شاهد (۱۵/٤۵)، تعداد برگ را ٤۲/۹ درصد افزایش داد (جدول شماره ۳).

وزن خشک اندام هوایی

اگرچه اثر سال‌های مختلف آزمایش و اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار نبود اما محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر وزن خشک اندام هوایی تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) داشت (جدول شماره ۲). محلول‌پاشی متانول وزن خشک اندام هوایی را افزایش داد به طوری که بیشترین میانگین آن در تیمار ٤٠ درصد حجمی متانول (۱۸۵۱/٦۷ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد که نسبت به میانگین تیمار شاهد (۱٤۳۹/۳۳ کیلوگرم در هکتار)، موجب افزایش ۲۲/۳ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. اگرچه غلظت ۱۰ درصد حجمی متانول تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت اما افزایش غلظت متانول به سطوح بالاتر موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول شماره ۳).

تعداد غلاف بوته

نتایج تجزیه مرکب نشان داد عامل سال و اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف، تأثیر معنی‌داری بر تعداد غلاف در گیاه نداشت. در حالی که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر تعداد غلاف در گیاه داشت (جدول شماره ۲). استفاده از متانول تعداد غلاف در گیاه را افزایش داد و بالاترین میانگین آن در تیمار ٤٠ درصد حجمی متانول (۷/۵ عدد) مشاهده شد که در مقایسه با میانگین تیمار شاهد (۵/۷ عدد)، تعداد غلاف در گیاه را ۳۱/٦ درصد افزایش داد. استفاده از غلظت ۱۰ درصد متانول نسبت به تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری بر تعداد غلاف نداشت. درحالی‌که غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند و به ترتیب موجب افزایش ۱۲/۳ و ۲۱ درصدی تعداد غلاف در بوته شنبلیله شد (جدول شماره ۳).

تعداد دانه در غلاف

عامل سال تأثیر معنی‌داری بر تعداد دانه در غلاف نداشت. اما محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول به طور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر تعداد دانه در غلاف تأثیر گذاشت. همچنین اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بر تعداد دانه در غلاف داشت (جدول شماره ۲). نتایج آزمون مقایسه میانگین نشان داد، استفاده از متانول نسبت به تیمار شاهد تعداد دانه در غلاف را افزایش داد. به طوری که بیشترین تعداد دانه در غلاف در تیمار ٤٠ درصد حجمی متانول (۱۷/۲۵ عدد) به دست آمد که در مقایسه با تیمار شاهد (۱٤/۳۵ عدد) موجب افزایش ۲۰ درصدی تعداد دانه در غلاف شد. همچنین تعداد دانه در غلاف در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد متانول تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. اما افزایش غلظت متانول به ۳۰ و ٤٠ درصد، تعداد دانه در غلاف را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری افزایش دادند (جدول شماره ۳).

وزن هزار دانه

اگرچه وزن هزار دانه تحت تأثیر عامل سال قرار نگرفت اما کاربرد متانول به طور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر وزن هزار دانه تأثیر گذاشت. همچنین اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف نیز تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بر وزن هزار دانه داشت (جدول شماره ۲). نتایج آزمون مقایسه میانگین نشان داد با استفاده از متانول نسبت به تیمار شاهد وزن هزار دانه افزایش یافت. به طوری که بیشترین میانگین وزن هزار دانه در تیمار ٤٠ درصد حجمی متانول (۱٦/۸۸ گرم) مشاهده شد و در

مقایسه با تیمار شاهد (۱٤/۳۵ گرم) وزن هزار دانه را ۱۷/٦ درصد افزایش داد. البته وزن هزار دانه در سطح ۱۰ درصد متانول تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (جدول شماره ۳).

عملکرد دانه

عامل سال تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه شنبلیله نداشت. اما محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول به طور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر عملکرد دانه تأثیر گذاشت. همچنین اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف بر عملکرد دانه معنی‌دار نبود (جدول شماره ۲). کاربرد متانول نسبت به تیمار شاهد عملکرد دانه را افزایش داد و بیشترین عملکرد دانه در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (۹۳۵/۱۷ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با میانگین تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول (۹۱۸/۱۷ کیلوگرم در هکتار) نداشت. اما نسبت به میانگین تیمار شاهد (٦۳٤/۵ کیلوگرم در هکتار) موجب افزایش ٤۷/٤ درصدی عملکرد دانه شد. همچنین عملکرد دانه در غلظت متانول ۱۰ درصد تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت. در حالی که افزایش غلظت متانول به بیش از این میزان، موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه نسبت به تیمار شاهد شد (جدول شماره ۳).

خاکستر دانه

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که عامل سال تأثیر معنی‌داری بر میزان خاکستر دانه نداشت. در حالی که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر میزان خاکستر دانه داشت. همچنین اثر متقابل متانول در سال‌های مختلف آزمایش بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول شماره ٤). کاربرد متانول میزان خاکستر دانه را افزایش داد و بالاترین میانگین آن در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (٤/۰۷ درصد) مشاهده شد که با سایر سطوح متانول تفاوت معنی‌داری نداشت. ولی در مقایسه با میانگین تیمار شاهد (۲/۷۹ درصد)، میزان خاکستر دانه را ٤۵/۸ درصد افزایش داد (نمودار شماره ۱).

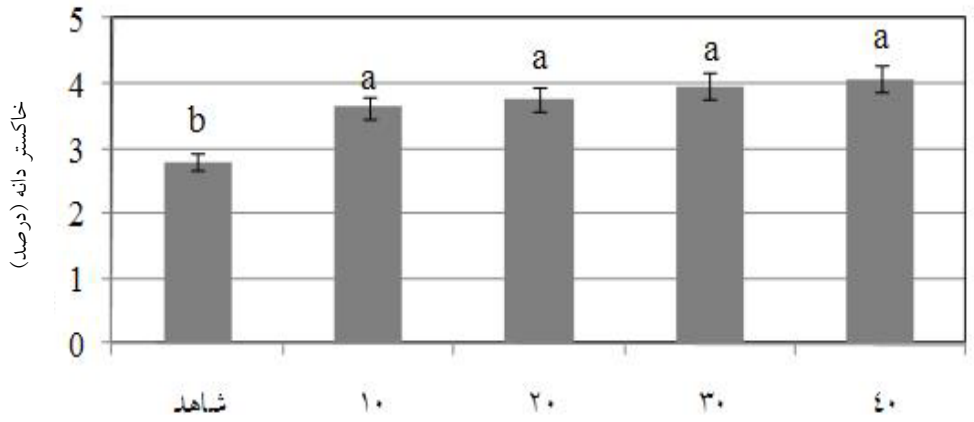
درصد موسیلاژ دانه

عامل سال در آزمایش تأثیر معنی‌داری بر درصد موسیلاژ دانه شنبلیله نداشت. اما محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بر درصد موسیلاژ دانه شنبلیله داشت. اثر متقابل کاربرد متانول در سال‌های مختلف بر درصد موسیلاژ دانه معنی‌دار نبود (جدول شماره ٤). نتایج آزمون مقایسه میانگین نشان داد که بالاترین درصد موسیلاژ دانه در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (۱۹/۸۹ درصد) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ درصد متانول نداشت. اما نسبت به میانگین تیمار شاهد (۱۸/۰۸ درصد) موجب افزایش ۱۰ درصدی موسیلاژ دانه شد. همچنین درصد موسیلاژ دانه در تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی متانول نداشت (نمودار شماره ۲).

جدول شماره ٤- تجزیه واریانس (ANOVA) میانگین مربعات خصوصیات فیتوشیمیایی دانه شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول

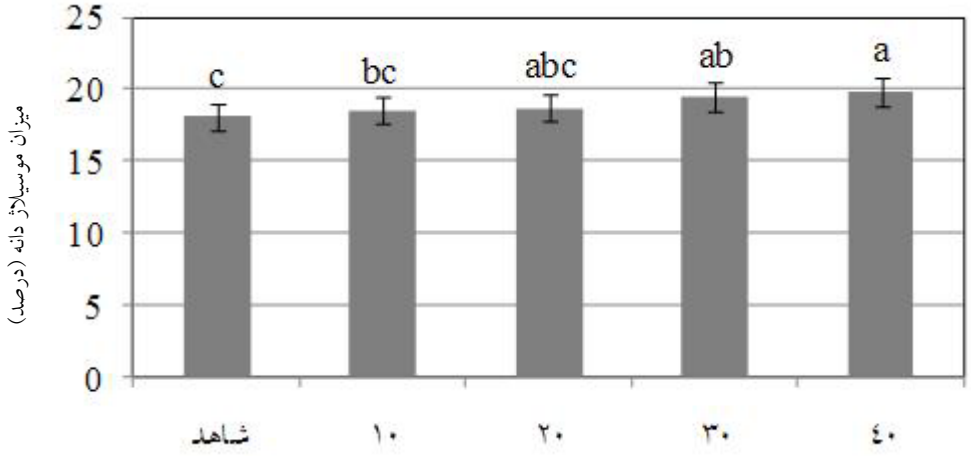
منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی D.f.	خاکستر دانه	درصد موسیلاژ دانه	عملکرد موسیلاژ دانه	شاخص تورم
سال	۱	۰/۷۳^{ns}	۳/۸۸^{ns}	۱۲٦۳/٦*	۰/۰۰۸^{ns}
خطای سال	٤	۰/٤۳	۸/٤۲	۱۱۸/۰۵	۰/۰۲٤
متانول	٤	۱/۵۳**	۳/۲۹*	٦۱۰۵/۰٤**	۰/۲۷**
متانول × سال	٤	۰/۰۹۷^{ns}	۰/۹۹^{ns}	۸۵٤/۲۹*	۰/۰۱^{ns}
خطای آزمایش	۱٦	۰/۱۹۳	۰/۹۷	۲۸۲/۵٦	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (CV%)	–	۱۲/۰٦	۵/۲	۱۱/۱٦	۵/۰۵

، *، **ns: به ترتیب عبارت از معنی‌دار بودن در سطح آماری ۱ و ۵ درصد احتمال و غیرمعنی‌دار بودن می‌باشد.



تیمار محلول پاشی متانول (درصد)

نمودار شماره ۱- تغیرات میزان خاکستر دانه شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد



تیمار محلول پاشی متانول (درصد)

نمودار شماره ۲- تغیرات میزان موسیلاژ دانه شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد

عملکرد موسیلاژ دانه

تغییرات عملکرد موسیلاژ دانه‌ی شنبلیله تحت تأثیر عامل سال آزمایش معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) شد. به طوری که عملکرد موسیلاژ دانه در سال ۱۳۹۲ نسبت به سال ۱۳۹۳ بیشتر بود. در مجموع، محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول به طور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بر عملکرد موسیلاژ دانه‌ی شنبلیله تأثیر داشت. همچنین اثر متقابل کاربرد متانول در سال‌های مختلف آزمایش نیز بر عملکرد موسیلاژ دانه معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) بود (جدول شماره ٤). محلول‌پاشی متانول میزان عملکرد موسیلاژ دانه‌ی شنبلیله را افزایش داد و بیشترین عملکرد موسیلاژ دانه در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (۱۸۵/٦۳ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول (۱۷۸/۷۷ کیلوگرم در هکتار) نداشت و کمترین میانگین آن در تیمار شاهد (۱۱٦/۹۷ کیلوگرم در هکتار) به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار غلظت ۱۰ درصد حجمی متانول (۱۲۰/۳۱ کیلوگرم در هکتار) نداشت (نمودار شماره ۳).

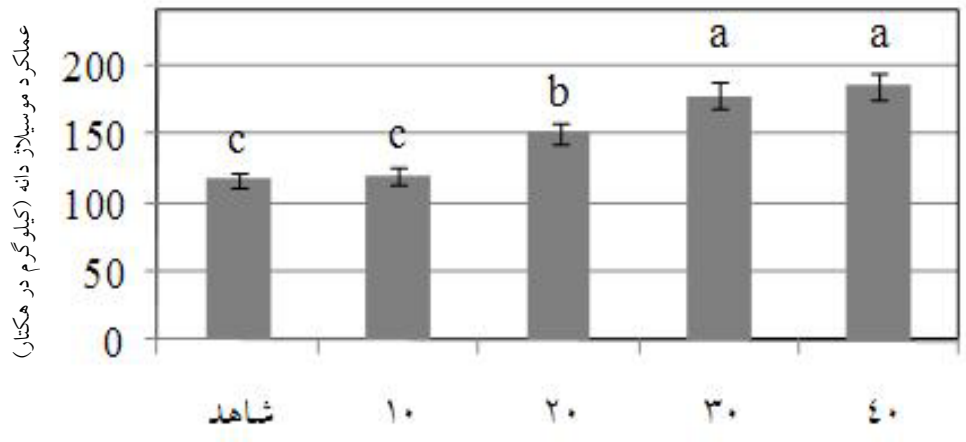
شاخص تورم دانه

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که عامل سال تأثیر معنی‌داری بر شاخص تورم نداشت. اما محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر شاخص تورم دارای اثر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بود و از سوی دیگر اثر متقابل کاربرد متانول در سال‌های مختلف تأثیر معنی‌داری بر این ویژگی نداشت (جدول شماره ٤). محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول شاخص تورم را افزایش داد. البته کاربرد متانول تا غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی نسبت به تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری بر شاخص تورم نداشتند. اما افزایش غلظت متانول به بیش از ۲۰ درصد موجب افزایش معنی‌دار میزان شاخص تورم در مقایسه با تیمار شاهد شد. به این ترتیب بیشترین میانگین شاخص تورم در تیمار ٤۰ درصد حجمی متانول (۸/۱۸ میلی‌لیتر) مشاهده شد که در مقایسه با میانگین تیمار شاهد (٦/۸۲ میلی‌لیتر)، شاخص تورم را تا ۲۰ درصد افزایش داد (نمودار شماره ٤).

همبستگی و رگرسیون صفات

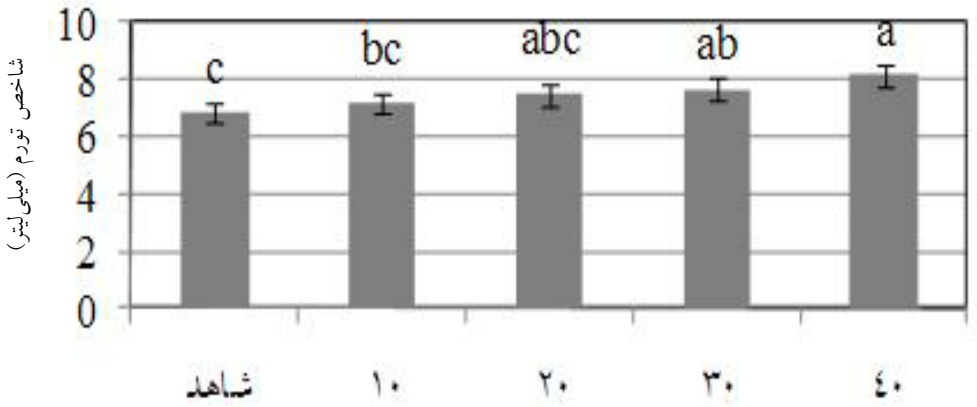
نتایج نشان داد درصد موسیلاژ دانه و شاخص تورم تنها با یکدیگر و هر کدام نیز با عملکرد موسیلاژ دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشتند و سایر صفات همبستگی مثبت و معنی‌داری با یکدیگر داشتند. بیشترین ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌دار برای صفت وزن خشک اندام هوایی به ترتیب با تعداد ساقه فرعی بوته (**۰/۹٦۵) و تعداد دانه در غلاف (**۰/۹۰۹) و نیز برای صفت عملکرد دانه به‌ترتیب با تعداد دانه در غلاف (**۰/۹۷٦)، تعداد ساقه فرعی بوته (**۰/۹٤٦) و وزن هزار دانه (**۰/۹٤۲) به دست آمد. علاوه بر این عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد برگ بوته (**۰/۸۷٤)، ارتفاع بوته (**۰/۸٦۵)، تعداد غلاف در بوته (**۰/۸۵۷) و وزن خشک اندام هوایی (**۰/۸۲٤) داشت. همچنین بیشترین ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌دار برای صفت عملکرد موسیلاژ دانه به ترتیب با درصد موسیلاژ دانه (**۰/۹٦٦) و عملکرد دانه (**۰/۹۱۲) حاصل شد.

نتایج رگرسیون گام به گام نیز نشان داد که تحت تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی غلظت‌های متانول، حدود ۹۸ درصد تغییرات عملکرد دانه گیاه شنبلیله توسط تغییرات تعداد دانه در غلاف، تعداد ساقه فرعی بوته و ارتفاع بوته قابل توجیه است. همچنین ضرایب رگرسیون استاندارد و ضریب تبین جزئی نشان دادند که تحت شرایط محلول‌پاشی متانول، تعداد دانه در غلاف به‌تنهایی بیشترین تغییرات حاصل در عملکرد دانه شنبلیله را توجیه کرده‌اند (جداول شماره ۵ و ۷). همچنین همبستگی زیادی میان عملکرد موسیلاژ دانه با عملکرد دانه و درصد موسیلاژ مشاهده شد و نتایج رگرسیون گام به گام نشان داد که تحت تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی متانول، عملکرد دانه و درصد موسیلاژ دانه توانست حدود ۹۷ درصد تغیرات عملکرد موسیلاژ دانه را توجیه کنند و این درحالی بود که درصد موسیلاژ دانه به تنهایی ۹۵ درصد تغییرات عملکرد موسیلاژ دانه را توجیه کرد (جداول شماره ٦ و ۷).



تیمار محلول پاشی متانول (درصد)

نمودار شماره ۳- تغییرات عملکرد موسیلاژ دانه شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد



تیمار محلول پاشی متانول (درصد)

نمودار شماره ٤- تغیرات شاخص تورم دانه شنبلیله تحت تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۱ درصد

جدول شماره ۵- نتایج رگرسیون گام به گام برای تعیین متغییرهای وابسته مؤثر بر عملکرد دانه شنبلیله

متغیرهای ورودی	مرحله	پارامتر	ضریب تبین جزئی	ضریب تبین مدل	ضرایب استاندارد شده	F
عرض از مبدا	–	-۳٤٤/۸٦	–	–	–	–
تعداد دانه در غلاف	۱	٤۹/۰۳۵	۰/۹۵۲	۰/۹۵۲	۰/٤۹	۵٦۵/۸۱**
تعداد ساقه فرعی	۲	۹٤/۵۷	۰/۰۱۹	۰/۹۷۲	۰/۳۵	۱۸/٦۵**
ارتفاع بوته	۳	۵/٦۹	۰/۰۰۸	۰/۹۸۰۱	۰/۱۸	۱۰/٤۱**

**: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد

جدول شماره ٦- نتایج رگرسیون گام به گام برای تعیین متغییرهای وابسته مؤثر بر عملکرد موسیلاژ دانه شنبلیله

متغیرهای ورودی	مرحله	پارامتر	ضریب تبین جزئی	ضریب تبین مدل	ضرایب استاندارد شده	F
عرض از مبدا	-	-۱۵۷/۸۹	-	-	-	-
درصد موسیلاژ دانه	۱	۸/۳۱۸	۰/۹۵۳	۰/۹۵۳	۰/۸٦۸	۲٦/۳۹**
عملکرد دانه	۲	۰/۱۸۹	۰/۰۲۱۹	۰/۹۷۵	۰/۳۷۸	۲۲/۹۳**

**: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد

جدول شماره ۷ – ضرایب همبستگی ساده پیرسون برای صفات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی شنبلیله

صفات مورد بررسی	ارتفاع بوته	تعداد ساقه فرعی	تعداد برگ بوته	وزن خشک اندام هوایی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه	عملکرد دانه	خاکستر دانه	درصد موسیلاژ دانه	عملکرد موسیلاژ دانه
تعداد ساقه فرعی	۰/۸۰۹**										
تعداد برگ بوته	۰/۸٤۱**	۰/۸٦۰**									
وزن خشک اندام هوایی	۰/۸۰۳**	۰/۹٦٥**	۰/۸٦۸**								
تعداد غلاف در بوته	۰/۸٦۱**	۰/۹**	۰/٦۱۸**	۰/۸۹۷**							
تعداد دانه در غلاف	۰/۸٦٥**	۰/٦۲٤**	۰/٥۷۳**	۰/۹۰۹**	۰/٥۳۲**						
وزن هزار دانه	۰/۸۷۸**	۰/۸۹۰**	۰/۷٥۲**	۰/٥۳٥**	۰/۷۱٦**	۰/٥۹۲**					
عملکرد دانه	۰/۸٦٥**	۰/۹٦٤**	۰/۸۷٤**	۰/۸۲٤**	۰/۸٥۷**	۰/۹۷٦**	۰/۹٤۲**				
خاکستر دانه	۰/٦۱۸**	۰/۷۰٦**	۰/٦٥۸**	۰/٦٦٤**	۰/٥۹**	۰/٦٤۳**	۰/٦۳۰**	۰/٦٤۲**			
درصد موسیلاژ دانه	-۰/۱٤ns	۰/۱۸٦ns	۰/۱۹۷ns	۰/۲۸۸ns	۰/۰٦۷ns	۰/۲۰٦ns	۰/۱۹۳ns	۰/۱۱٦ns	۰/۰۷٥ns		
عملکرد موسیلاژ دانه	۰/۷۲۲**	۰/۸۰٦**	۰/۸۰۳**	۰/۸٥۲**	۰/۸٤٥**	۰/٦۳۰**	۰/۷۱٥**	۰/۹۱۲**	۰/٦۱۳*	۰/۹٦٦**	
شاخص تورم	۰/۰٥۷ns	۰/۲۷۳ns	۰/۲۸۱ns	۰/۲٤۰ns	۰/۰۷٤ns	۰/۲۳٦ns	۰/۲۳٤ns	۰/۱۷۷ns	۰/۲٥۱ns	۰/٦٤۳**	۰/۳۷٤*

بحث

نتایج نشان داد در بین صفات مورد بررسی، تنها عملکرد موسیلاژ دانه تحت تأثیر سال قرار گرفت و بیشترین میزان این صفات نیز در سال ۱۳۹۲ حاصل شد. همچنین تمام صفات مورد ارزیابی تحت تأثیر محلول‌پاشی سطوح مختلف غلظت متانول قرار گرفتند و بیشترین میزان آنها در تیمار غلظت ٤۰ درصد حجمی متانول حاصل شد. نتایج این تحقیق با نتایج خسروی (Khosravi) و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت. این محققین گزارش کردند که محلول‌پاشی ٤۰ درصد حجمی متانول موجب بهبود صفات رویشی از قبیل، ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و ویژگی‌های فیتوشیمیای گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) در شرایط رویشی اقلیم کرج شد [۲٥]. یوسفی (Yoosefi) و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که بیشترین میانگین تعداد دانه در غلاف و تعداد غلاف در گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) تحت تأثیر محلول‌پاشی متانول با غلظت ٤۰ درصد حجمی به دست آمد [۲٦]. همچنین سبکرو (Sabokrow) و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که محلول‌پاشی ٤۰ درصد متانول موجب افزایش معنی‌دار خصوصیات کیفی گیاه تنباکو (*Nicotiana tobacco*) شد [۱۲].

طبق گزارش‌های نانومیورا (Nonomura) و بِنسون (Benson) (۱۹۹۲)، محلول‌پاشی غلظت‌های ۱۰ تا ٥۰ درصد متانول موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان مختلف شد و از آنجایی که کاربرد متانول هیچ تأثیری روی رشد گیاهان چهار

کربنه (C_4) ندارد، در نتیجه به نظر می‌رسد اثر متانول بر رشد گیاهان سه کربنه (C_3) ناشی از کاهش تنفس نوری آنها باشد [۹]. زیرا در شرایط مزرعه‌ای زمانی که دمای هوا، شدت نور و در نتیجه تنفس نوری زیاد بود، محلول‌پاشی متانول رشد گیاهان را افزایش داد [۱۷، ۱۳، ۹]. تفاوت آشکاری که بین گیاهان سه کربنه (C_3) با گیاهان چهار کربنه (C_4) طی آسیمیلاسیون متانول مشاهده می‌شود، بازداشتن تنفس نوری در گیاهان سه کربنه (C_3) می‌باشد [۹]. علاوه بر این نانومیورا و بنسون (۱۹۹۲) اظهار داشتند که گلیسین تولید شده طی تنفس نوری، برای آسیمیلاسیون متانول در گیاهان سه کربنه (C_3) ضروری است. به عبارت دیگر گیاهانی که تنفس نوری ندارد، نمی‌توانند متانول را آسیمیله نموده و در نتیجه پس از محلول‌پاشی بر روی آنها، از خود علائم مسمومیت نشان می‌دهند [۲۷]. مهم‌ترین نقش پیشنهاد شده برای عمل متانول در گیاهان سه کربنه (C_3)، بازداشتن تنفس نوری است که این امر احتمالاً ناشی از افزایش غلظت CO_2 داخل برگ‌ها می‌باشد [۲۸]. زیرا افزایش غلظت CO_2 در داخل برگ‌ها باعث می‌شود که ریبولوز ۱ و ۵ بیز فسفات به جای ترکیب شدن با O_2 با CO_2 واکنش دهد و عمل کربوکسیلاسیون اتفاق افتد. از این روی افزایش بیوماس گیاهان سه کربنه (C_3) تیمار شده با متانول ناشی از استفاده آنها از متانول به عنوان یک منبع مستقیم کربنی برای بیوسنتز سرین و نیز کاهش هدر رفتن کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد [۲۷، ۲۶، ۱۷]. همچنین گزارش شده است که محلول‌پاشی متانول روی برگ‌های گیاهان موجب افزایش تورژسانس سلول، کارایی فتوسنتز و آسیمیلاسیون کربن می‌شود [۲۸، ۱۱].

عملکرد ماده خشک گیاهان نتیجه جذب خالص CO_2 در طول دوره رشد گیاه می‌باشد. جذب CO_2 نیز نتیجه جذب انرژی خورشید بوده و چون تشعشع خورشید به طور یکنواخت روی سطح زمین توزیع می‌شود، عوامل عمده که بر عملکرد ماده خشک اثر می‌گذارند انرژی خورشیدی جذب شده و بازده استفاده از انرژی خورشید یا کارآیی فتوسنتزی برگ‌ها برای تثبیت CO_2 می‌باشد. در این تحقیق همبستگی مثبت و معنی‌داری میان وزن خشک اندام هوای گیاه شنبلیله با ارتفاع بوته ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۸۰۳$)، تعداد برگ بوته ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۸۶۸$)، تعداد ساقه فرعی ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۹۶۵$)، تعداد غلاف در بوته ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۸۹۷$)، تعداد دانه در غلاف ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۹۰۹$)، عملکرد دانه ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۹۶$) و وزن هزار دانه ($p<۰/۰۱$، $r=۰/۵۳۵$) به دست آمد. افزایش تعداد برگ موجب افزایش شاخص سطح برگ و در نتیجه افزایش کارآیی جذب انرژی تابشی خورشید می‌شود. همچنین با افزایش ارتفاع بوته و افزایش فاصله میان گره‌ها، احتمال سایه‌اندازی بر روی برگ‌های پایینی کمتر می‌شود و به این ترتیب ممکن است میزان فتوسنتز در برگ‌های پایین نیز افزایش یافته و در نهایت وزن خشک گیاه افزایش می‌یابد [۳۰، ۲۹]. بنابراین، محلول‌پاشی متانول علاوه بر کاهش تنفس نوری و افزایش میزان فتوسنتز خالص از طریق افزایش ارتفاع ساقه، تعداد برگ و تعداد ساقه فرعی بوته نیز موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شده است.

وزن خشک گیاه وسیله مناسبی برای تشخیص توانایی بالقوه گیاه برای تولید عملکرد تحت شرایط محیطی و تیمارهای مختلف است [۱۰]. تولیدات فتوسنتزی گیاه برای نمو دانه استفاده می‌شود اما قبل از این مرحله ترکیبات فتوسنتزی برای ساخت برگ‌ها، شاخه‌ها و غلاف‌ها مصرف می‌شوند [۳۱]. بنابراین با توجه نتایج همبستگی و رگرسیون گام به گام می‌توان گفت، محلول‌پاشی سطوح مختلف متانول بر گیاه شنبلیله از طریق افزایش تعداد دانه در غلاف، ارتفاع بوته، وزن خشک گیاه و وزن هزار دانه موجب افزایش عملکرد دانه شده است. نتایج این تحقیق با نتایج سایر مطالعات برای افزایش عملکرد دانه تطابق دارد [۳۳، ۳۲، ۹]. همچنین زبیک (Zbiec) و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که افزایش غلظت متانول موجب افزایش عملکرد دانه کلزا شد. به طوری که محلول‌پاشی متانول با غلظت ۳۰ و ۴۰ درصد نسبت به تیمار شاهد موجب افزایش ۳۰ درصدی عملکرد دانه شد [۳۱]. همچنین در سایر مطالعات افزایش تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن خشک اندم هوایی، وزن هزار دانه، ارتفاع بوته برای گیاهانی مانند بادام زمینی، سویا (*Glycine max* L.)، چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) و

آفتاب‌گردان (*Helianthus annuus* L.) گزارش شده است [۲۸، ۳۱، ۳۴، ۳۵، ۳۶].

محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول از طریق تأثیر بر افزایش درصد موسیلاژ دانه و عملکرد دانه توانست عملکرد موسیلاژ دانه در گیاه شنبلیله را افزایش دهد. موسیلاژها هیدروکربن‌های نامحلولی هستند که پس از تجزیه شدن انرژی تولید می‌کنند. اجزای اصلی موسیلاژ، پکتین است. پکتین یک پلی‌ساکارید اسیدی می‌باشد که سبب تشکیل ژل در ماتریکس بین سلولی می‌شود و در دیواره سلولی تمام سلول‌ها نیز وجود دارد [۳۷]. در بیشتر گونه‌ها موسیلاژ در ایدیوبلاست‌ها (Idioblast) (سلول‌هایی که از سایر سلول‌ها در یک بافت کاملاً متمایز و مشخص هستند و از ویژگی‌های آنها دیواره سلولی ضخیم‌تر و کلروپلاست کمتر است) و در حفره‌هایی در میان سلول‌ها (Extracellular mucilage) ذخیره می‌شوند. تعداد و اندازه سلول‌های موسیلاژ در بین جنس‌ها و گونه‌ها متفاوت است. سلول‌های موسیلاژی هم در سلول‌های اپیدرمی و هم در سلول‌های آندوسپرم دانه یافت می‌شوند [۳۸]. پلی‌ساکاریدهای موسیلاژی توسط دیکتیوزم‌ها ساخته می‌شوند و توسط کیسه‌های بزرگی به حفره‌ای که از تونوپلاست جدا شده است، منتقل می‌شوند. در مراحل انتهایی تمایز، این سلول‌ها کاملاً با موسیلاژ پر می‌شوند و هسته و سیتوپلاسم در هنگام بلوغ سلول تجزیه می‌شوند. سلول‌های موسیلاژی در بافت مزوفیل برگ یا آندوسپرم دانه توزیع شده‌اند و هر سلول توسط دیواره‌های پکتیکی به قسمت‌های زیادی تقسیم می‌شوند. بنابراین محققین این سلول‌ها را سلول‌های کابین‌دار نامیده‌اند. آنها فقط در برگ‌ها و دانه‌های بالغ مشاهده می‌شوند و از ویژگی‌های آنها نداشتن هسته، سیتوپلاسم، واکوئل و سایر اجزای سلولی می‌باشد که به نظر می‌رسد این سلول‌ها متحمل فرآیند مرگ سلول (Programmed cell death) می‌شوند [۳۹]. البته مکانسیم و نحوه اثر متانول بر افزایش محتوای موسیلاژ هنوز ناشناخته است اما نتایج آزمایش نشان داد محلول‌پاشی متانول موجب افزایش درصد موسیلاژ دانه شنبلیله شد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، محلول‌پاشی متانول به عنوان یک محرک‌زیستی و روش نوین در تولید و زراعت گیاهان دارویی توانست موجب بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی، عملکرد دانه و موسیلاژ در گیاه دارویی شنبلیله طی دوره رویش خود در اقلیم و اکوسیستم زراعی کرج شود. تحت شرایط محلول‌پاشی متانول، تغیرات عملکرد دانه شنبلیله بیشتر توسط تغییرات تعداد دانه در غلاف توجیه شد و همچنین تغییرات عملکرد موسیلاژ دانه شنبلیله بیشتر به تغییرات درصد موسیلاژ دانه مرتبط بود.

تشکر و قدردانی

از حمایت علمی و مالی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی به ویژه گروه پژوهشی کشت و توسعه گیاهان دارویی به دلیل همکاری در اجرای این طرح تحقیقاتی طی دو سال زراعی کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Leung AY and Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients D used in food, drugs and cosmetics (2nd ed.). New York: John Wiley and Sons, Inc. 2, 1996, p: 478.

2. Newall CA, Anderson L A, and Phillipson J D. Herbal medicines: A guide for healthcare professionals. London: The Pharmaceutical Press. 1996, p: 263.

3. Petropoulos GA. Fenugreek, The genus *Trigonella*. Taylor and Francis, London and New York. 2002, pp: 1 - 255.

4. Mehrafarin A, Qaderi A, Rezazadeh Sh, Naghdi Badi H, Noormohammadi Gh and Zand E. Bioengineering of important secondary metabolites and metabolic pathways in fenugreek (*Trigonella*

foenum-graecum L.). *J. Medicinal Plants* 2010; 9 (35): 1 - 18.

5. Snehlata HS and Payal DR. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.): an overview. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Res*. 2012; 2 (4): 169 - 87.

6. Budavari S. The merck index: An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 12th ed. Whitehouse Station, N.J. Merk & Co, Inc. 2001, p: 854.

7. Hajimehdipoor H, Sadat-Ebrahimi S E, Amanzadeh Y, Izaddoost M and Givi E. Identification and Quantitative Determination of 4-Hydroxyisoleucine in *Trigonella foenum-graecum* L. from Iran. *J. Medicinal Plants* 2010; 9 (6): 29 - 34.

8. Lawlor D. Photosynthesis: Metabolism, Control and Physiology. Longman, Harlow. 1987, 262 pp.

9. Nonomura AM and Benson A A. The Path of Carbon in Photosynthesis: Improved crop yields with methanol. *Proceedings of the National Academy of Sci.* USA. 1992; 89 (20): 9794 - 8.

10. Makhdum MI, Malik MNA, Din SU, Ahmad F and Chaudhry FI. Physilogical response of cotton to methanol foliar application. *J. Res. Sci*. 2002; 13: 37 - 43.

11. Safarzade Vishekaei MN, Normohamadi GH, Majidi Haravan E and Rabiei B. Effect of methanol on peanut growth and yield (*Arachis hypogaea* L.). *J. Agric. Sci*. 2005; 103 - 88.

12. Sabokrow Foomany K, Sabokrow Foomany K, Safarzade Vishekaei MN, Daneshian J and Rangbar M. Study of growth and yield indexes of tobacco in response to methanol sprayed. *International Journal of Agriculture*: *Research and Rev*. 2012; 2 (3): 149 - 54.

13. Paknejad F, Bayat V, Ardakani MR and Vazan S. Effect of methanol foliar application on seed yield and its quality of soybean (*Glycine max* L.) under water deficit conditions. *Annals of Biological Res*. 2012; 3 (5): 2108 - 17.

14. Gout E, Aubert S, Blingny R, Rebeille F, Nonomura AR, Benson AA and Douce R. Metabolism of Methanol in plant cells. Carbon-13 (Nuclear magnetic resonance studies). *Plant Physiol*. 2000; 123: 287 - 96.

15. Mcgiffen ME, Green RL, Manthey JA, Faber BA, Downer AJ, Sakovich NJ and Aguiar J. Field tests of methanol as a crop yield enhancer. *Hortsci*. 1995; 30: 1225 - 8.

16. Gaffe J, Tieman DM and Handa AK. Pectin methylesterase isoforms in tomato (*Lycopersicon esculentum*) tissues: effects of expression of a pectin methylesterase antisense gene. *Plant Physiol*. 1994; 105: 199 - 204.

17. Fall R and Benson AA. Leaf methanol- the simplest natural product from plants. *Trends in Plant Sci*. 1996; 1: 296 - 301.

18. Nemecek-Marshall M, MacDonald RC, Franzen JJ, Wojciechowski CL, and Fall R. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance and leaf development. *Plant Physiol*. 1995; 108: 1359 - 68.

19. Hemming DJB, Criddle RC, and Hansen LD. Effects of methanol on plant respiration. *J. Plant Physiol*. 1995; 146: 193 - 8.

20. Ramirez I, Dorta F, Espinoza V, Jimenez E, Mercado A and Pena-Cortes H. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of *Arabidopsis*, tobacco and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 2006; 25: 30 - 44.

21. Li Y, Gupta G, Joshi JM and Siyumbano AK. Effect of methanol on soybean photosynthesis and chlorophyll. *J. Plant Nutr*. 1995; 18: 1875 - 80.

22. Hassanzadeh E, Chaichi MR, Mazaheri D, Rezazadeh Sh and Naghdi Badi H. Physical and chemical variabilities among domestic Iranian fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) seeds. *Asian Journal of Plant Sci*. 2011; 10 (6): 323 - 30.

23. Jani GK, Shah DP, Prajapati VD and Jain VC. Gums and mucilages: versatile excipients for

pharmaceutical formulations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sci*. 2009; 4 (5): 309 - 23.

24. World Health Organization Geneva (WHO). Quality control methods for medicinal plant materials. (ISBN: 9241545100). WHO library cataloguing in publication on data (WHO publishes). Printed in England. 1998, 122 p.

25. Khosravi MT, Mehrafarin A, Naghdi Badi H, Hadavi E, Hajiaghaee R and Khosravi E. Phytochemical and growth responses of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) to hydroalcoholic solutions. *Thieme E-Journals - Planta Med*. 78-PG3. 2012; https://www.thieme-connect.com/ejournals/abstract/10.1055/s-0032-1320646.

26. Mahalleh Yoosefi SM, Safarzadeh Vishekaei M N, Noormohammadi Gh and Noorhosseini Niyaki SA. Effect of foliar spraying by methanol on growth of common bean and snap bean in Rasht, North of Iran. *Research Jouranl of Biological Sci*. 2011; 6 (2): 47 - 50.

27. McGiffen ME and Manthey JA. The role of methanol in promoting plant growth: a current evaluation. *HortSci*. 1996; 31 (7): 1092 - 6.

28. Mirakhori M, Paknejad F, Moradi F, Moradi F, Nazeri P and Nasri M. Effect of methanol spraying on yield and yield components of soybean (*Glycine max* L.). *J. Agroecol*. 2010; 2 (2): 236 - 44.

29. Koocheki A and sarmadnia G. Physiology of crop plants. *Jahad University of Mashhad Press* 1999, 400 p.

30. Dugardeyn J and Straeten DVD. Ethylene: Fine-tuning plant growth and development by stimulation and inhibition of elongation. *Plant Sci*. 2008; 175: 59 - 70.

31. Zbiec I, Karczmarczyk S and Podsiadlo C. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Elect. J. Polish Agric*. Univ.: Agron. 2003; 6: 1 - 7.

32. Zbiec I and Karczmarczyk S. Effect of methanol on some plants. *Journal of Romanian Agricultural Res*. 1997; 7 - 8: 45 - 9.

33. Devlin RM. Influence of methanol on plant germination and growth. *Plant Growth Soc. Amer. Quart*. 1994; 22: 102 - 8.

34. Hernandez LF, Pellegrini CN and Malla LM. Effect of foliar applications of methanol on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Experimental Botany* 2000; 66: 1 - 8.

35. Jafari Paskiabi M, Safarzadeh Vishekaei M N, Noorhosseini Niyaki S A, Farzi M, and Aslani A. Effect of time and foliar spraying by methanol on growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Middle-East Journal of Scientific Res*. 2011; 8 (1): 173 - 7.

36. Pilehvari Khomami R, Safarzadeh Vishekaei MN, Sajedi N, Rasuli M and Moradi M. Effect of methanol and zinc application on peanut qualitiea and quantities characteristics in Guilan region. *New Find. Agric*. 2008; 2: 339 - 51.

37. Wu Y, Cui W, Eskin NAM and Goff HD. Fractionation and partial characterization of non-pectic polysaccharides from yellow mustard mucilage. *Food Hydrocolloids* 2009; 23: 1535 - 41.

38. Pakravan M, Abedinzadeh H and Safaeepur J. Comparative studies of mucilage cell in different organs in some speice of *Malva*, *Althaea* and *Alcea*. *Pakistan Journal of Biological Sci*. 2007; 10 (15): 2603 - 5.

39. Mastroberti AA and de Araujo Mariath JE. Development of mucilage cells of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Protoplasma* 2008; 232: 233 - 45.

Changes in Seed Yield and Mucilage of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in Response to Foliar Application of Methanol as a Bio-stimulant

Mehrafarin A (Ph.D.)[1], Naghdi Badi H (Ph.D.)[1*], Qaderi A (Ph.D.)[1], Labbafi MR (Ph.D.)[1],Zand E (Ph.D.)[2],Noormohammadi Gh (Ph.D.)[3], Qavami N (Ph.D. Student)[1], Seif Sahandi M (Ph.D. student)[1]

1- Medicinal Plants Research Centre, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
2- Weed Research Department, Iranian Plant Protection Research Institute, Tehran, Iran
3- Department of Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
*Corresponding author: Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, P.O.Box: 31375/1369, Karaj, Iran
Tel: +98-26-34764010-9, Fax: +98-26-34764021
Email: Naghdibadi@yahoo.com

Abstract

Background: Fenugreek is a multipurpose and valuable medicinal plant that its consumption of seeds in the pharmaceutical industry for the economically production of mucilage (galactomannan) and trigonelline is very important. Foliar application of methanol as a biostimulant on C_3 plants such as the fenugreek can increase the CO_2 fixation in photosynthesis and decrease photo-respiration and the result will produce more dry matter in these plants.

Objective: The aim was to determine changes in seed and mucilage yield of fenugreek in response to foliar application of different concentrations of methanol.

Methods: This research was carried out at the experimental farm of Medicinal Plants Institute (MPI) of Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR) located in Karaj during two cropping seasons based on a randomized complete block design with 5 treatments and 3 replications. Foliar application during the growing season was run 3 times with 12 days interval. The treatments were control (sprayed with distilled water without methanol) and foliar application of four different concentrations of methanol (10, 20, 30 and 40 volumetric percent).

Results: Foliar application of different concentrations of methanol had a significant effect on number of branches per plant, number of leaves per plant, shoot dry weight, number of pods per plant, number of seeds per pod, seed yield, yield of seed mucilage, seed ash content, seed swelling index ($p\leq0.01$), plant height, and 1000 seeds weight ($p\leq0.05$).

Conclusion: Foliar application of methanol as a bio-stimulant and the new method in production of medicinal plants improved seed yield and yield of seed mucilage in fenugreek. In general, the maximum amounts of the studied traits were achieved in the foliar application of 40% v/v methanol concentration.

Keywords: *Trigonella foenum-graecum* L., Biostimulant, Methanol, Seed yield, Seed mucilag