



دانشگاه گیلان، دانشکده باغبانی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و سوم، شماره دوم، ۱۳۹۵

<http://jopp.gau.ac.ir>

بررسی پاسخ برخی از متغیرهای فتوسنتزی گیاه دارویی استویا به غلظت‌های مختلف زغال فعال با حلال‌های متفاوت

وحید اکبرپور^۱، *حسین آرویی^۲، کامبیز مشایخی^۳، مجید عزیزی آرانی^۲ و

محمدعلی بهمنیار^۴

^۱دانش‌آموخته دکتری علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، پردیس بین‌الملل دانشگاه فردوسی مشهد،

^۲به‌ترتیب استادیار و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،

^۳دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۴استاد گروه علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱۲

چکیده

سابقه و هدف: زغال فعال در محیط کشت بافت به‌عنوان جذب‌کننده ترکیبات فنلی و مواد سمی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما در مورد مصرف مستقیم آن به‌صورت محلول‌پاشی روی گیاه تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است. مبنای استفاده از این ماده به‌عنوان منبع کربنی، تحقیقات به‌عمل آمده در مورد ساکارز می‌باشد که تأثیر بسیار مثبتی روی رشد و نمو گیاه دارد. لذا این فرضیه را پیش آورد که در صورت استفاده از زغال فعال، این ماده می‌تواند توسط مواد باردار در سطح گیاه جذب و بخشی از طریق کوتیکول و بخشی از طریق روزنه‌ها به درون آن منتقل و وارد چرخه تثبیت کربن گردد. هدف از این بررسی، استفاده از زغال فعال به‌منظور افزودن کربن موردنیاز گیاه دارویی استویا در طی فتوسنتز به غیر از گاز دی‌اکسید کربن از سایر منابع می‌باشد. با توجه به این‌که این گیاه از کربوهیدرات‌ذخیره‌ای بالایی برخوردار است که جهت این‌گونه بررسی‌ها، سامانه تحقیقی مناسب را فراهم می‌آورد، برای اعمال تیمارهای مذکور انتخاب شد.

*مسئول مکاتبه: aruei@um.ac.ir

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی اثر زغال فعال بر متغیرهای فتوسنتزی استویا، طرحی در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل سطوح مختلف زغال فعال با غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد انتخاب شدند. عامل دوم حلال‌های متانول ۱۵ درصد، اسید بُریک ۳ در هزار، اسید استیک ۱ در هزار و آب مقطر بودند. تیمارها به فواصل هر ۱۰ روز یک بار تا قبل از مرحله به گل رفتن روی گیاه محلول‌پاشی شدند. با شروع گل‌دهی اجزای وابسته کلروفیلی نظیر فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی (Fo)، فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv)، فلورسانس کمینه در شرایط روشنایی (Fo')، فلورسانس بیشینه در شرایط روشنایی (Fm')، سرعت انتقال الکترون (ETR)، بیشینه کارایی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm) II، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، عملکرد برگ و میزان استویوزاید برگ اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از زغال فعال به‌عنوان منبع کربنی امکان‌پذیر می‌باشد و غلظت‌های مختلف زغال فعال با حلال‌های متفاوت روی تمامی صفات اندازه‌گیری شده به‌طور معنی‌داری مؤثر می‌باشد. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، مطلوب‌ترین میزان صفات فتوسنتزی محاسبه شده مربوط به غلظت ۰/۶ درصد زغال فعال بود و سایر غلظت‌ها در رده‌های بعدی قرار گرفتند. همچنین، بیشترین و کمترین میزان ویژگی‌های مطلوب فتوسنتزی به ترتیب در حلال‌های متانول ۱۵ درصد (M)، اسید بُریک ۳ در هزار (B)، اسید استیک ۱ در هزار (A) و آب مقطر (C) به‌عنوان تیمار شاهد به‌دست آمد. همچنین اثر حلال‌های متفاوت (در سطح ۰/۰۱ درصد)، زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر میزان وزن خشک برگ معنی‌دار بود. از لحاظ میزان استویوزاید برگ نیز حلال متانول بیشترین (۱۱/۸۸) و سه حلال دیگر اسید بوریک (۱۰/۶۷)، اسید استیک (۹/۴۲) و آب مقطر (۸/۲۸) از یک روند کاهشی پیروی نمودند.

نتیجه‌گیری: در نهایت می‌توان عنوان نمود که استفاده از زغال فعال همراه با حلال مناسب آن می‌تواند نیاز مطلق به منبع کربنی موجود در هوا را کاهش داده یا جایگزین آن گردد. نتایج نشان داد که با اعمال تیمارهای مختلف، میزان کربن جذب شده افزایش یافته و می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای افزودن گازکربنیک و بالا بردن غلظت آن باشد. احتمال می‌رود افزایش کربن جذب شده می‌تواند با اکسیده شدن در درون گیاه، وارد چرخه فتوسنتزی گردد که در این صورت هیچ‌گونه افزایشی در میزان کربن موجود در جو ایجاد نمی‌کند.

کلمات کلیدی: استویوزاید، اسید استیک، اسید بُریک، زغال فعال، فلورسانس کلروفیلی، متانول

مقدمه

استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاهی علفی و چندساله متعلق به تیره آستراسه^۱ است، که ۳۰۰-۴۰۰ بار شیرین‌تر از ساکارز می‌باشد (۵). علت شیرینی این گیاه به حضور دی‌ترین گلیکوزیدهای استویوزاید و ریبودیوزاید در این گیاه نسبت داده شده است (۶، ۱). در سال‌های اخیر، این گیاه با خصوصیات قندی بارز و بدون کالری مورد توجه قرار گرفته است که می‌تواند جایگزین قند استخراج شده از نیشکر و چغندر قند شود. استویا به‌عنوان یک گیاه معجزه‌آسا برای بیماران دیابتی مورد توجه قرار گرفته و به‌دلیل قند بدون کالری خود توانسته به تدریج در بازار گیاهان دارویی و در صنعت نوشابه، شیرینی، شکلات و نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۵).

شدت فتوسنتز اصلی‌ترین مشخصه رشد و عملکرد در گیاهان می‌باشد. لذا توانایی حفظ آن برای حصول به بیشینه عملکرد ضروری می‌باشد (۳). بنابراین کاملاً روشن است که کاهش میزان فتوسنتز می‌تواند سبب کاهش عملکرد گیاه شود. کربوهیدرات‌ها در مراحل اصلی فرآیند فتوسنتز ایفای نقش نموده و سرعت آن را مشخص می‌نماید (۳۲). از این‌رو استفاده از منابع کربنی که بتواند جایگزین گازکربنیک جذب شده توسط اندام‌های سبز باشد جهت کمک به تغذیه گیاه و هم‌چنین افزایش کارایی فتوسنتز در جهت نیل به اهداف خاص فیزیولوژیکی دیگر می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد.

زغال فعال فرمی از کربن است که دارای تخلخل ریز و کم حجم می‌باشد. در هر سانتی‌متر مکعب این ماده ۸۰۰ مترمربع سطح وجود دارد. این ویژگی سبب افزایش سطح به حجم آن شده که قابلیت جذب ترکیبات شیمیایی را افزایش می‌دهد و از طرفی می‌تواند تأمین‌کننده احتمالی کربن موردنیاز گیاه در نتیجه افزایش کربوهیدرات آن باشد (۲۸). این ترکیب به‌عنوان یک ماده بی‌طعم و غیرسمی در کشت‌های درون شیشه‌ای به‌ویژه برای جذب مواد سمی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰)، اما تاکنون به‌عنوان منبع کربنی از طریق محلول‌پاشی استفاده نگردیده است.

با توجه به این‌که ۲۵ درصد از کربن گیاه صرف تنفس نوری می‌شود با استفاده از محلول‌پاشی متانول می‌توان میزان تنفس نوری را به کمینه رسانده و از این طریق به عملکرد گیاه افزود. همچنین مصرف محلول ۵۰-۱۰ درصدی متانول سبب افزایش رشد ۴۰ تا ۱۰۰ درصدی عملکرد گوجه‌فرنگی گردید و دلیل این امر به نقش و اثر متانول در بهبود تثبیت گازکربنیک نسبت داده شد (۳۰). یوزین و

همکاران (۲۰۰۸) نیز در بررسی اثر متانول بر فتوستتز برگ گندم نشان دادند که فتوستتز به میزان زیادی توسط تیمار متانولی بهبود یافت است (۳۸).

بُر نیز یکی از عناصر ضروری برای گیاه بوده و فراهمی آن در خاک و آب آبیاری به‌عنوان یک عامل تعیین کننده در تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌گردد (۳۶). این عنصر می‌تواند نقش احتمالی اتصال و انتقال قندها به‌صورت سیس دی ال با ساکارز در گیاه را بر عهده داشته باشد (۱۳). بُر همچنین جهت تنظیم میزان ایندول اسید استیک از طریق فعالیت IAA-اکسیداز بسیار مهم می‌باشد (۲۴، ۳۴). اسید استیک یک اسید چرب فرار می‌باشد که در خاک حاوی بقایای گیاهی یافت می‌شود (۲۳). نتایج برخی پژوهش‌ها مشخص نموده است که این ماده می‌تواند در ساختمان غشای سلول‌ها به‌کار رفته و در رشد اندام‌های گیاه مؤثر باشد (۱۴).

انرژی حاصل از نور بعد از جذب به‌وسیله ملکول‌های کلروفیل اندام‌های سبز، در طول زنجیره انتقال الکترون انتقال می‌یابد و صرف فرآیند نورشیمیایی^۱ مورد نیاز فتوستتز می‌گردد. انرژی اضافی بر مصرف نیز به‌صورت گرما (فرآیند غیر نورشیمیایی اتلاف شده و یا به‌صورت نور مادون‌قرمز (فلورسانس کلروفیل) از گیاه منعکس می‌گردد (۴). با توجه به این‌که این فرآیندها به‌صورت رقابتی صورت می‌پذیرد لذا، با اندازه‌گیری کارایی فلورسانس کلروفیلی، می‌توان اطلاعاتی در مورد تغییرات در میزان مورد نیاز مصرف فتوشیمیایی و اضافی آن به‌صورت هدررفت گرمایی به‌دست آورد (۲۲). همچنین اندازه‌گیری‌های فلورسانس می‌تواند اطلاعاتی در مورد کاربرد و پراکندگی انرژی نورانی در شرایط پایدار، یعنی زمانی که فتوستتز به‌طور کامل صورت می‌گیرد فراهم می‌نماید. براساس پژوهش‌های انجام شده، جریان الکترون در فتوستتز، شاخصی برای میزان کلی فتوستتز است. بدیهی است که با اندازه‌گیری این صفت، میزان جریان الکترون و نحوه عمل فتوستتز قابل تخمین می‌باشد (۲۵). در همین راستا، روی صفت‌های فتوستتزی و فلورسانس کلروفیلی برگ برخی گیاهان تحقیقاتی به‌عمل آمده است (۲، ۱۶، ۱۷، ۱۹، ۲۰).

با توجه به این‌که تاکنون بر روی ویژگی‌های فلورسانس کلروفیلی استویا پژوهشی صورت نگرفته و از طرفی کاربرد زغال فعال به‌عنوان فرضیه‌ای مبنی بر احتمال مؤثر بودن این ماده در فتوستتز را نشان می‌دهد، بنابراین استفاده از منابع کربنی نظیر زغال فعال، متانول و اسید استیک می‌تواند جهت تأمین

سریع عناصر غذایی موردنیاز گیاهان عالی از اهمیت خاصی برخوردار باشد (۱۸). بنابراین در این پژوهش که صفات فتوسنتزی و شدت فلورسانس کلروفیلی برگ گیاه دارویی استویا و همچنین میزان عملکرد و استویوزاید موجود در برگ گیاه، در سطوح مختلف زغال فعال با حلال‌های متفاوت شامل متانول، اسید پُریک و اسید استیک مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به این‌که تاکنون پژوهشی با استفاده از زغال فعال به‌طور محلول‌پاشی مستقیم برگی بر روی گیاهان صورت نگرفته و تنها تحقیقات به‌عمل آمده در مورد زغال فعال، مربوط به کاربرد این ترکیب در محیط کشت بافت به‌عنوان جذب‌کننده مواد سمی و ممانعت از فنولی شدن مواد مترشح‌ه از گیاه به درون محیط کشت اکتفا شده است، می‌توان به جنبه نوآوری و کاربردی بودن آن اشاره داشت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی پاسخ صفات فتوسنتزی گیاه استویا، پس از تهیه کرت‌های موردنظر در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، نشاهای گیاه استویا کشت گردیدند. این منطقه دارای طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۹ دقیقه شمالی و در ارتفاع ۱۴ متر از سطح دریا قرار دارد. با استقرار نشاهای گیاه، محلول‌پاشی طی شش مرحله تا قبل از به گل رفتن گیاه در قالب تیمارهای موردنظر صورت گرفت. تیمارها شامل سطوح مختلف زغال فعال با غلظت‌های ۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد بودند که، در حلال‌های متانول ۱۵ درصد (M)، اسید پُریک ۳ در هزار (B)، اسید استیک ۱ در هزار (A) و آب مقطر (C) حل شدند. تیمار غلظت صفر زغال فعال با حلال آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

به‌منظور اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل از دستگاه فلوریمتر (مدل OS1-FL ساخت کشور آمریکا) استفاده شد. دستگاه مورد استفاده توانایی اندازه‌گیری فلورسانس در دو حالت روشنایی و تاریکی را دارا می‌باشد.

با شروع گل‌دهی صفات فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی^۱ (Fo)، فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی^۲ (Fm)، فلورسانس متغیر^۳ (Fv)، فلورسانس کمینه در شرایط روشنایی^۴ (Fo')، فلورسانس

1- Min fluorescence under dark acclimated condition

2- Max fluorescence under dark acclimated condition

3- Variable fluorescence

4- Min fluorescence under light acclimated condition

بیشینه در شرایط روشنایی^۱ (F_m')، بیشینه کارایی فتوشیمیایی سامانه نوری $^{II}F_v/F_m$ و سرعت انتقال الکترون^۳ (ETR)، براساس روش جنتی و همکاران (۱۹۸۹) مستقیماً در مزرعه اندازه‌گیری شد (۱۲). بدین منظور در ساعات اولیه روز، از هر بوته دو برگ کاملاً باز شده جوان انتخاب و مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیلی اندازه‌گیری شد. همچنین کلروفیل کل، کلروفیل a و b به روش پوراً^۴ (۲۰۰۲) اندازه‌گیری و ثبت شدند (۳۳).

عملکرد برگ خشک گیاه نیز با توزین برگ‌های جدا شده از ساقه و خشک شده در آون، اندازه‌گیری و بر حسب گرم در بوته ثبت شد. با توجه به این‌که استویوزید بین سایر گلیکوزیدهای گیاه استویا بیشترین فراوانی را داراست، لذا میزان این ترکیب قندی در برگ گیاهان مورد تیمار، ارزیابی گردید. به این منظور با استفاده از دستگاه HPLC و تزریق نمونه‌ها با سرعت جریان یک میلی‌متر بر دقیقه و زمان ظهور پیک‌ها در ۷-۱۲ دقیقه میزان این ترکیب اندازه‌گیری شد (۵).

تجزیه آماری: این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری JAMP نسخه ۸ و مدل‌های خطی عمومی (GLM) مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و تحلیل آماری و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی (F_0): اثر حلال (در سطح ۰/۰۵ درصد) و غلظت زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) بر فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی معنی‌دار بودند در حالی که اثر متقابل این دو معنی‌دار نبود (جدول ۱). با توجه به شکل ۱، بیشترین مقدار فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی در شرایط تاریکی در حلال آب مقطر (۱/۶۳) و کمترین میزان آن در حلال متانول (۱/۲۷) مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین و کمترین میزان فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی به ترتیب مربوط به غلظت‌های صفر (۱/۵۲) و ۰/۴ درصد (۱/۴۱) زغال فعال می‌باشد (شکل ۲). در پژوهشی افزایش صفت فلورسانس کمینه در اثر تنش شوری را به دلیل افزایش بازدارندگی

- 1- Max fluorescence under light acclimated condition
- 2- Maximum photochemical quantum yield of photosystem II
- 3- Electron transport rate
- 4- Porra

سامانه نوری II در ارقام مختلف گلرنگ گزارش شده بود (۱۹). تنش سرما نیز اثر مشابهی در تغییر میزان فلورسانس کمینه داشت به طوری که تنش سرما افزایش فلورسانس کمینه را در پی داشت (۱۶). لذا در شرایط تنش این صفت افزایش یافته و به احتمال زیاد تنفس نوری کاهش می‌یابد. مقایسه میانگین تیمارهای مختلف نشان داد در تیمار متانولی کمترین میزان فلورسانس کمینه ثبت گردیده است. با توجه به این که کمترین میزان فلورسانس کمینه در غلظت ۰/۶ زغال فعال ثبت گردیده به نظر می‌رسد که تیمار این گیاه با زغال فعال توانسته است از بازدارندگی نوری سامانه II جلوگیری نماید و به نوعی کارایی فتوسنتزی را افزایش داده و در پی آن تنفس نوری افزایش یابد یا به عبارت دیگر تولید افزون بر مصرف توسط تنفس نوری مصرف گردد. افزایش فلورسانس کمینه در نتیجه تنش‌های محیطی ممکن است با متوقف کردن مرکز واکنش سامانه نوری^۱ (PSII) II اتفاق افتد که یا در سمت دهنده با غیرفعال نمودن اکسیژن دخیل در ترکیب‌ها باشد یا در سمت پذیرنده با ممانعت از انتقال الکترون یا ایجاد محدودیت‌هایی با کاهش انتقال ملکول‌های متحرک نظیر پلاستوکوئینون‌ها به وقوع بپیوندد (۲۷، ۹). به طور کلی ساخت پروتئین‌های سامانه نوری II در شرایط محیطی مناسب افزایش می‌یابد که نتیجه فتوسنتز بهتر می‌باشد (۳۵). هاجک و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی ممانعت از فرآیندهای فتوسنتزی القاء شده توسط دما و تنش اسمزی که با محلول ساکارز اعمال گردید، دریافتند که غلظت‌های کم و زیاد ساکارز اثر متفاوتی بر صفت فلورسانس کمینه داشت، به طوری که در غلظت‌های پایین ساکارز این صفت تغییر یا افزایش فلورسانس کمینه را سبب نشد؛ در حالی که غلظت‌های بالا، موجب کاهش فلورسانس کمینه گردید (۱۵). یافته‌های ایشان بر اساس تیمار مورد استفاده به‌عنوان منبع کربنی با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در شرایط رطوبتی مناسب نیز واکنش‌های فتوشیمیایی در حالت تورژسانس انجام شده و تبادلات گازی بهتری صورت می‌گیرد که در نهایت از افزایش بیش از حد فلورسانس کمینه جلوگیری می‌نماید (۲۶). با توجه به این که زغال فعال یک منبع کربنی بوده که تأمین کننده بخشی از ترکیب گازکربنیک موردنیاز برای گیاه می‌باشد احتمال می‌رود که دلیل کاهش فلورسانس کمینه در حضور منبع کربنی نیز همین باشد، که مؤید مؤثر بودن این ماده در افزایش فتوسنتز در گیاهان می‌باشد.

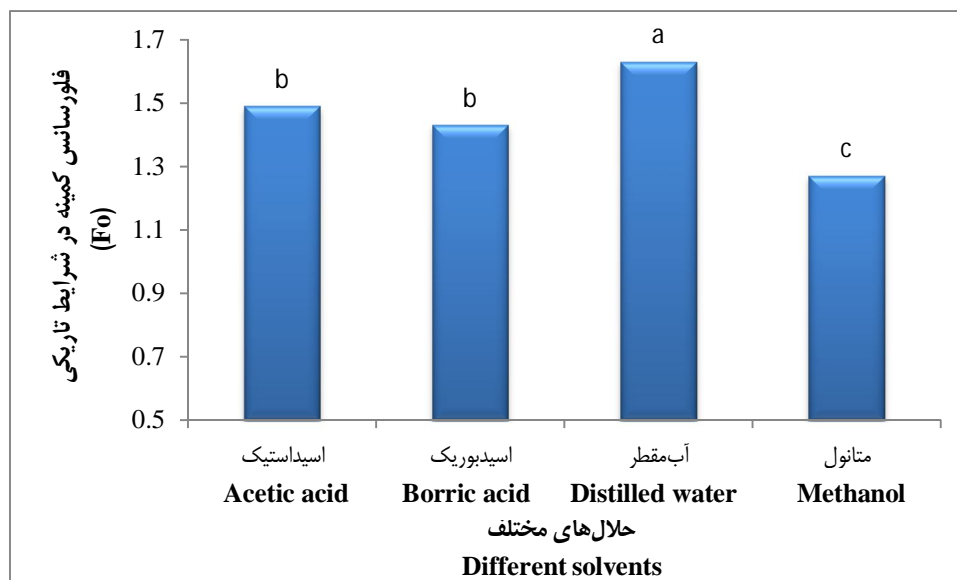
جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برخی از صفات فتوسنتزی گیاه استویا.

Table 1. Mean square of variation analysis of some of photosynthetic traits of stevia plant.

منابع تغییرات Source of variations	درجه آزادی Degree of freedom	فلورسانس در شرایط تاریکی Fo	فلورسانس در شرایط تاریکی Fm	فلورسانس متغیر Fv	بیشینه کارایی فتوشیمیایی Fv/Fm	فلورسانس کمینه در شرایط روشنایی Fo'	فلورسانس بیشینه در شرایط روشنایی Fm'
نوع حلال Solvent type	3	0.115**	7.69**	9.719**	0.033**	0.156*	0.445**
غلظت زغال فعال Concentration of active coal	3	0.307*	7.662**	10.852**	0.059**	0.540**	1.298**
نوع حلال × غلظت زغال فعال Solvent type × Concentration of active coal	9	0.030 ^{ns}	0.762*	0.575*	0.001 ^{ns}	0.046*	0.083*
خطا Error	32	0.017	0.046	0.066	0.0007	0.019	0.030
کل Total	47						

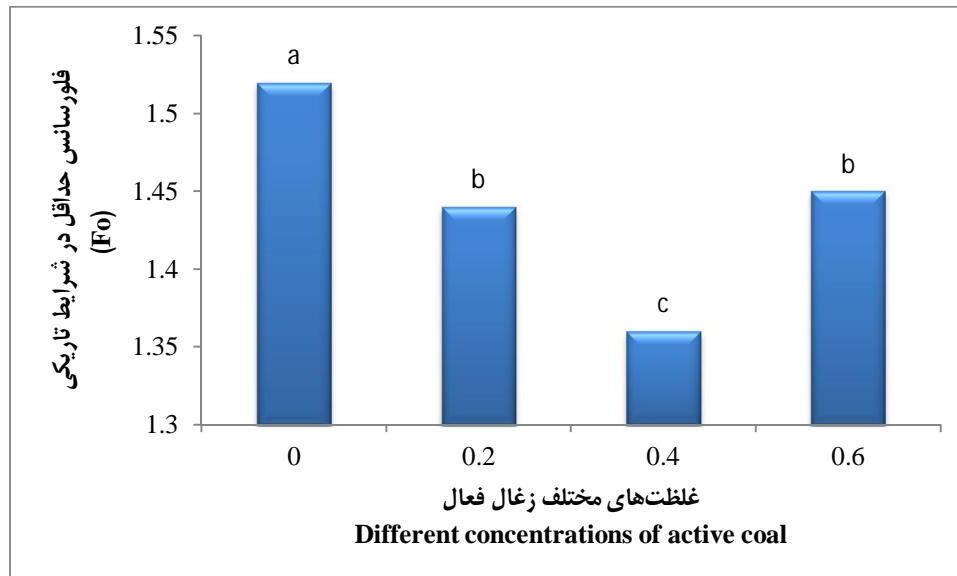
***, ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱، ۰/۰۵ و عدم تفاوت معنی‌دار.

***, ** and ns represent significance level of 0.01, 0.05 and non-significant difference, respectively.



شکل ۱- اثر حلال‌های مختلف بر فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی (Fo).

Figure 1. Effect of different solvents on minimum fluorescence in dark condition (Fo).



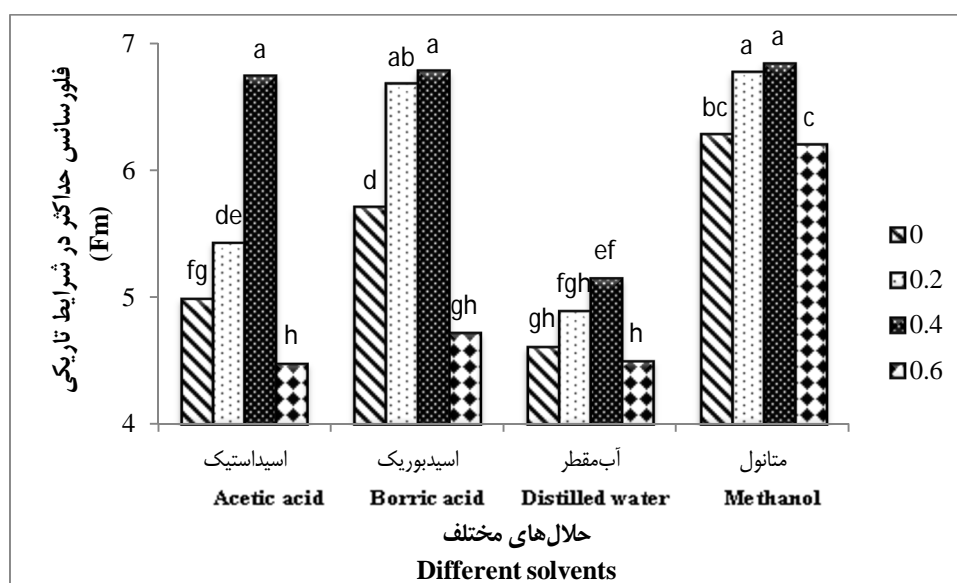
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف زغال فعال بر فلورسانس کمینه در شرایط تاریکی (Fo).

Figure 2. Effect of different concentrations of active coal on minimum florescence in dark condition (Fo).

فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی (Fm): با توجه به جدول ۱، اثر حلال‌های مختلف (در سطح ۰/۰۱ درصد)، غلظت‌های مختلف زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و همچنین اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که حلال متانول بیشترین (۶/۴۴) میزان فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی را نسبت به حلال‌های اسید بوریک (۵/۹۵)، اسید استیک (۴/۷۰) و آب مقطر (۳/۶۸) به خود اختصاص داد (شکل ۳). بیشترین و کمترین مقدار فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی به ترتیب در غلظت‌های صفر و ۰/۴ درصد زغال فعال به دست آمد (شکل ۳). نتایج حاصل از بررسی اثر متقابل حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال نشان داد که تیمار متانول + ۰/۴ درصد زغال فعال دارای بیشترین میزان فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی می‌باشد، در حالی که کمترین مقدار آن مربوط به تیمار بدون حلال + ۰/۶ درصد زغال فعال بود (شکل ۳).

فلورسانس بیشینه در شرایط بهینه افزایش می‌یابد. این نتایج حاکی از این است که محلول زغال فعال با متانول به احتمال زیاد می‌تواند جایگزین دی‌اکسید کربن مورد نیاز در فتوسنتز گردد. موضوعی که در فضای باز مزرعه غیرقابل کنترل می‌باشد و از این رو می‌تواند انقلاب بزرگی در افزایش و بهبود

کیفیت و تولید محصولات کشاورزی ایجاد نماید. تنش سرمای هوا باعث کاهش معنی‌دار در میزان فلورسانس بیشینه (Fm) شد. در دستگاه فتوستتزی گیاهانی که تحت این تیمار قرار گرفته بودند. به احتمال زیاد جریان الکترون از سامانه نوری II به سامانه نوری I مناسب‌تر بوده، لذا فعالیت در سامانه نوری I افزایش یافته و در نتیجه میزان فلورسانس بیشینه بهتری داشته است (۱۶، ۲۶). مناسب بودن این حلال را می‌توان به تعداد کم اتم کربن در آن و قابلیت افزایش کربن و هیدروژن در آن نسبت داد.

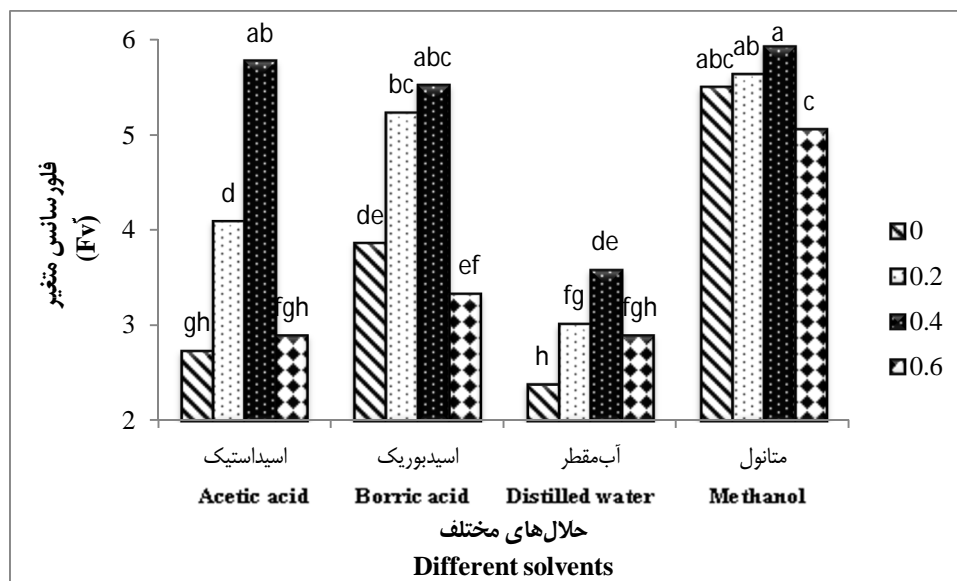


شکل ۳- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر فلورسانس بیشینه در شرایط تاریکی (Fm).

Figure 3. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on maximum fluorescence in dark condition (Fm)

فلورسانس متغیر (Fv): نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر حلال‌های متفاوت (در سطح ۰/۰۱ درصد)، غلظت‌های مختلف زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر فلورسانس متغیر معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). با توجه به شکل ۴، بیشترین و کمترین میزان فلورسانس متغیر به ترتیب در حلال‌های متاتول (۵/۵۴)، اسید بُوریک (۴/۵۶)، اسید استیک (۳/۷۵) و آب مقطر (۳/۰۴) به دست آمد. تیمار غلظت ۰/۴ درصد زغال فعال بیشترین (۵/۱۵) و تیمار غلظت صفر درصد زغال فعال (۳/۴۹) کمترین مقدار فلورسانس متغیر را به خود اختصاص دادند.

(شکل ۴). در بررسی اثر متقابل حلال‌های مختلف و غلظت‌های مختلف زغال فعال، تیمار حلال متانول+۰/۴ درصد زغال فعال بیشترین (۵/۹۳) میزان فلورسانس متغیر را به خود اختصاص داده بود (شکل ۴). با توجه به این‌که فلورسانس متغیر از تفاضل فلورسانس بیشینه و فلورسانس کمینه حاصل می‌گردد، بنابراین با افزایش فلورسانس بیشینه، این صفت نیز افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده کاهش فلورسانس کمینه یا افزایش فلورسانس بیشینه می‌باشد. در هر صورت این پدیده باعث افزایش کارایی فتوسنتزی می‌گردد. در پژوهش‌های صورت گرفته به منظور بررسی اثر دمای پایین بر میزان فلورسانس متغیر، کاهش معنی‌دار این صفت در شرایط تنشی گزارش شده است (۱۶). که فلورسانس کمینه یا بیشینه به ترتیب افزایش یا کاهش یافته است. احتمال می‌رود که کاهش فلورسانس بیشینه باعث بروز این پدیده گردیده است. البته لازم به ذکر است که در حالت تنش، کاهش بیشتر فلورسانس بیشینه حدس زده می‌شود. بر اساس گزارشات قبلی در شرایط بهینه، فلورسانس کمینه کاهش می‌یابد. لذا در این حالت بهبود شرایط فتوسنتزی نتیجه افزایش فلورسانس بیشینه و در نتیجه افزایش فلورسانس متغیر می‌باشد.



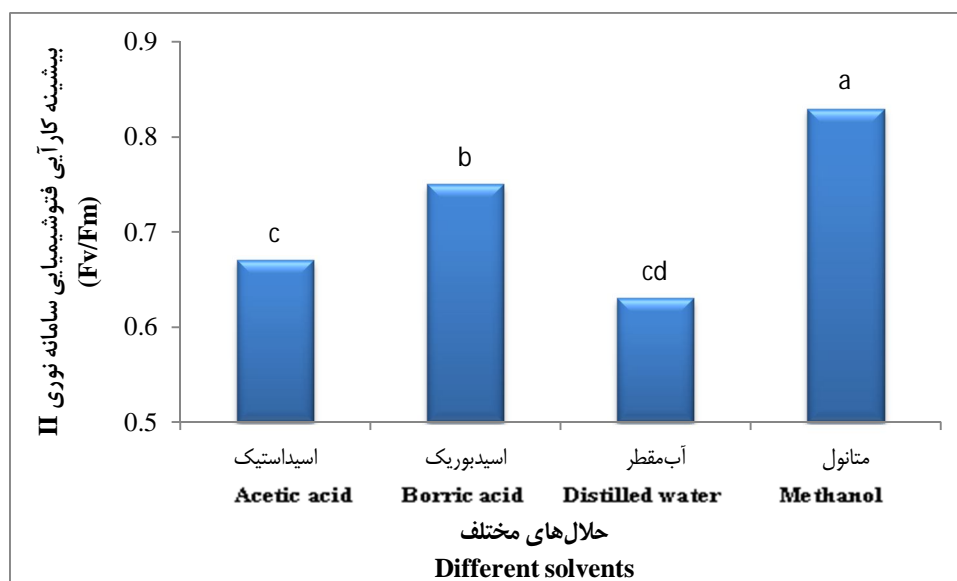
شکل ۴- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر فلورسانس متغیر (Fv).

Figure 4. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on variable fluorescence (Fv).

بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm): اثر حلال و زغال فعال در سطح ۰/۰۱ بر بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II معنی‌دار بود، در حالی‌که اثر متقابل آن‌ها غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). حلال متانول بیشترین (۰/۸۳) و سه حلال دیگر یعنی اسید بوریک (۰/۷۵)، اسید استیک (۰/۶۷) و آب مقطر (۰/۶۳) کمترین مقدار بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II را به خود اختصاص دادند (شکل ۵). از نظر میزان بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II به ترتیب تیمار ۰/۴ درصد زغال فعال و صفر درصد زغال فعال، بیشترین (۰/۸۱) و کمترین (۰/۶۶) مقدار را داشتند (شکل ۶).

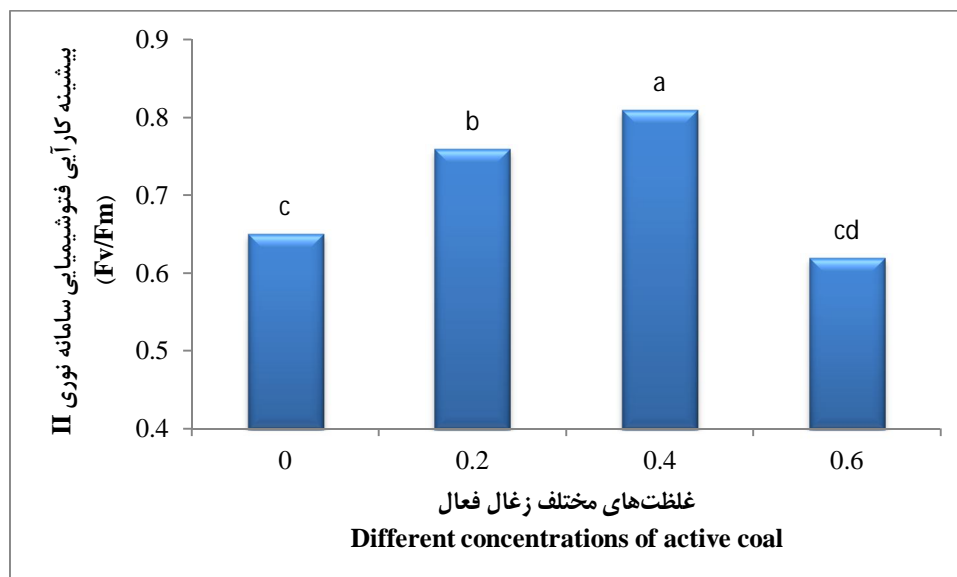
این صفت نشان‌دهنده پتانسیل یا بیشینه عملکرد کوانتومی سامانه نوری II (PSII) بوده و مقدار آن در گیاهانی که در شرایط عادی و فاقد تنش‌های محیطی پرورش می‌یابند بین ۰/۸۵-۰/۶۵ متغیر است. در صورتی‌که گیاهان در معرض هر یک از تنش‌های محیطی قرار گیرند مقدار این صفت، کاهش خواهد یافت (۳۹). معراجی‌پور و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش نمودند که معمولاً تنش گرمایی به تنهایی یا در ترکیب با تنش خشکی ممکن است با تخریب مراکز واکنشی سامانه نوری II سبب افزایش فلورسانس کمینه گردد که در نهایت منجر به کاهش بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II خواهد شد. جوادی‌پور و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند که سطوح مختلف شوری بر میزان نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس بیشینه یا بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm) اثر معنی‌داری داشت. پاک‌نژاد و همکاران (۲۰۰۷) علت کاهش بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm) را ناشی از اثر ساختمانی بر این سامانه دانسته و آن را یکی از عوامل اصلی دخیل در کاهش تدریجی سرعت فتوسنتز از طریق کاهش انتقال الکترون گزارش نمودند (۳۲). در شرایط بهینه بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II افزایش می‌یابد که با کاهش Fo مرتبط می‌باشد (۲۱). یاماساکی و همکاران (۲۰۰۲) نیز کاهش Fv/Fm در نتیجه تنش دمایی پایین را گزارش نمودند (۳۸). روند افزایش Fv/Fm به دلیل کاهش Fm می‌باشد. به‌عنوان مثال گزارش گردید که در اثر دمایی پایین و محلول ساکارز، بیشینه کارآیی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm) نیز نسبت به افزایش غلظت ساکارز حساسیت نشان داده و کاهش یافت که به دلیل هم‌زمانی کاربرد ساکارز و مواجهه گیاه با دمایی پایین به‌عنوان عامل تنش‌زا نسبت داد (۱۵). این حالت در اثر ساکارز نشان‌دهنده اثر بازدارندگی یا بازخورد^۱

فیدبک طی تیمار با این ماده می‌باشد. در حالت دیگر بیشینه مقدار این صفت بستگی به افزایش انتقال الکترون و افزایش کارایی فتوسنتزی که نشانگر آن میزان بالای فلورسانس در این عامل می‌باشد که مجدداً تأکیدی بر مثبت بودن اثر زغال فعال و همچنین متانول به‌عنوان مناسب‌ترین حلال این ماده که منجر به افزایش کارایی فتوسنتزی است می‌باشد.



شکل ۵- اثر حلال‌های مختلف بر بیشینه کارایی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm).

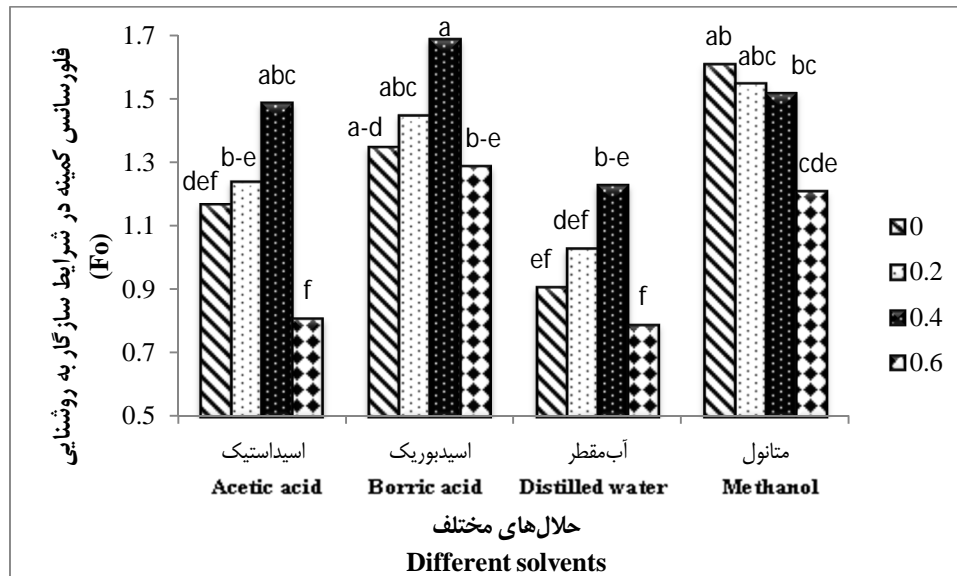
Figure 5. Effect of different solvents on maximum photochemical quantum yield of photosystem II (Fv/Fm).



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف زغال فعال بر بیشینه کارایی فتوشیمیایی سامانه نوری II (Fv/Fm).

Figure 6. Effect of different concentrations of active coal on maximum photochemical quantum yield of photosystem II (Fv/Fm).

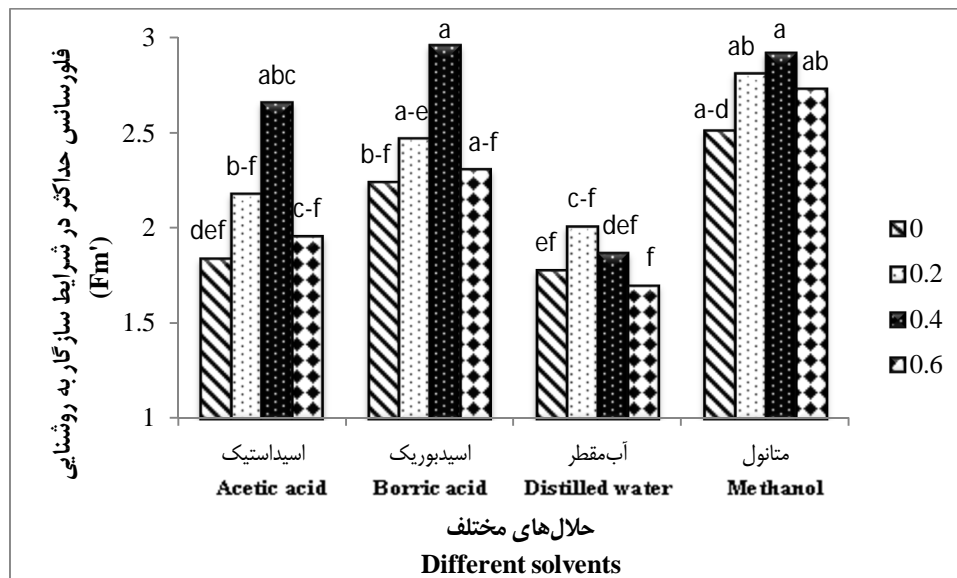
فلورسانس کمینه در شرایط سازگار به روشنایی (F_o'): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع حلال، غلظت زغال فعال و اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۱ درصد) بر فلورسانس کمینه در شرایط سازگار به روشنایی معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). با توجه به شکل ۷، میزان فلورسانس کمینه در شرایط سازگار به روشنایی در حلال متانول (۱/۶۰) بیشتر از حلال‌های اسید بوریک (۱/۴۴)، اسید استیک (۱/۲۳) و آب مقطر (۰/۹۹) می‌باشد. تیمار ۰/۴ درصد زغال فعال بیشترین (۱/۵۲) و تیمار صفر درصد زغال فعال کمترین (۱/۱۸) مقدار فلورسانس کمینه در شرایط سازگار به روشنایی را به خود اختصاص دادند (شکل ۷). نتایج تجزیه داده‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار فلورسانس کمینه در شرایط سازگار به روشنایی در اثر متقابل، به ترتیب در تیمارهای حلال اسید بوریک+۰/۴ زغال فعال (۱/۶۹) و آب مقطر+۰/۶ درصد زغال فعال (۰/۷۹) به دست آمد (شکل ۷). با توجه به این‌که در شرایط روشنایی مناسب، فلورسانس کمینه (F_o') افزایش می‌یابد، لذا افزایش آن در تیمار ۰/۶ درصد زغال فعال نسبت به سایر مقادیر، نشان دهنده افزایش فلورسانس کمینه در شرایط روشنایی می‌باشد. به عنوان مثال حسنی و همکاران (۲۰۱۴) کاهش این صفت را در شرایط تنشی در مورد گیاه برنج گزارش نموده و بدیهی است که در شرایط بهینه این صفت، افزایش خواهد یافت (۱۶).



شکل ۷- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر فلورسانس کمینه در شرایط سازگار به روشنایی (F_o).
 Figure 7. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on minimum fluorescence under dark acclimated condition (F_o).

فلورسانس بیشینه در شرایط سازگار به روشنایی (F_m'): اثر حلال (در سطح ۰/۰۱) و غلظت‌های زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و همچنین اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر فلورسانس بیشینه در شرایط سازگار به روشنایی معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به شکل ۸، مقدار فلورسانس بیشینه در شرایط سازگار به روشنایی در حلال‌های متانول، اسید بوریک، اسید استیک و آب مقطر به ترتیب ۲/۷۵، ۲/۴۹، ۲/۱۶ و ۱/۸۴ به دست آمد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار ۰/۴ درصد زغال فعال بیشترین (۲/۹۶) و تیمار صفر درصد زغال فعال کمترین (۲/۰۹) میزان فلورسانس بیشینه در شرایط سازگار به روشنایی را به خود اختصاص داده بودند (شکل ۸). طبق نتایج حاصل از اثر متقابل حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال مشخص شد که تیمار اسید بوریک+۰/۴ درصد زغال فعال دارای بیشترین (۲/۹۶) و تیمار آب مقطر +۰/۶ درصد زغال فعال دارای کمترین (۱/۷۰) مقدار فلورسانس حداکثر در شرایط سازگار به روشنایی می‌باشند (شکل ۸).

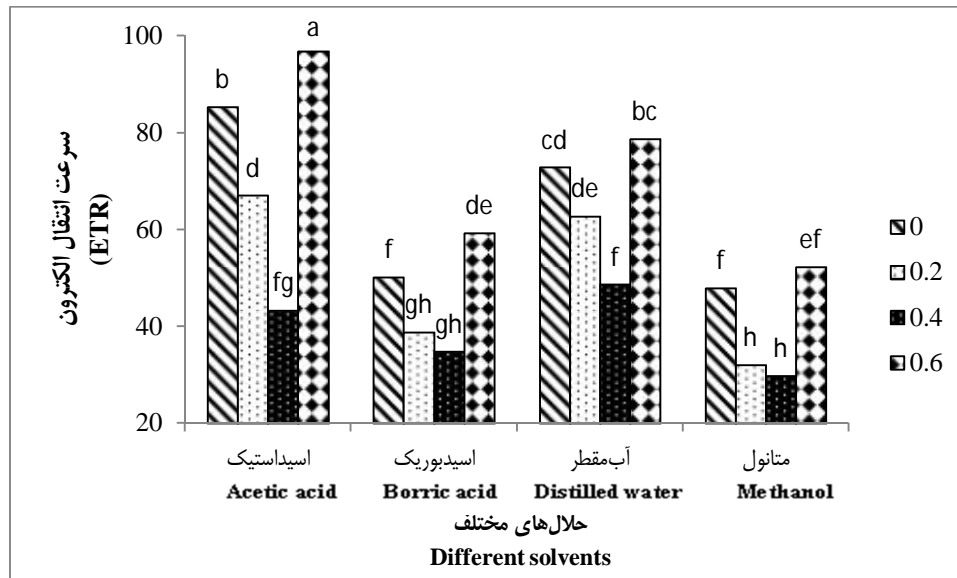
نتایج مبین این است که در روشنایی هر دو میزان فلورسانس کمینه و بیشینه افزایش می‌یابند و نشان‌دهنده این نکته است که نور در اینجا بر روی هر دو سیستم به طور یکسان عمل نموده و باعث افزایش کارایی فتوسنتزی می‌گردد.



شکل ۸- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر فلورسانس بیشینه سازگار به شرایط روشنایی (Fm').
 Figure 8. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on maximum fluorescence under light acclimated condition (Fm').

سرعت انتقال الکترون (ETR): مطابق جدول ۲، اثر حلال‌های متفاوت، غلظت‌های مختلف زغال فعال و همچنین اثر متقابل این دو بر سرعت انتقال الکترون معنی‌دار (در سطح ۰/۰۱ درصد) می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین میزان سرعت انتقال الکترون به ترتیب مربوط به حلال‌های اسید استیک (۷۴/۶۲)، آب مقطر (۶۲/۲۶)، اسید بوریک (۴۹/۴۹) و متانول (۴۰/۴۸) می‌باشد (شکل ۹). تیمار ۰/۶ درصد زغال فعال دارای بیشترین (۷۱/۲۹) و تیمار ۰/۴ درصد زغال فعال دارای کمترین (۳۹/۸۶) میزان سرعت انتقال الکترون می‌باشد (شکل ۹). بین نتایج اثرات متقابل، تیمارهای اسید استیک + ۰/۶ درصد زغال فعال و متانول + ۰/۴ درصد زغال فعال به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان سرعت انتقال الکترون بودند (شکل ۹).

بر اساس تحقیقات به عمل آمده قبلی که اغلب آن‌ها تأثیر تنش بر روی گیاهان مختلف بررسی شده، تیمارهای مانند سرما، خشکی و شوری سبب کاهش انتقال الکترون می‌گردد (۹، ۱۶، ۱۹). بنابراین در تحقیق حاضر مشخص شد که استفاده از زغال فعال به عنوان ترکیب کربنی به احتمال زیاد می‌تواند با تأثیر بر سرعت انتقال الکترون، نقش مثبتی در افزایش فتوسنتز گیاه داشته باشد.



شکل ۹- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر سرعت انتقال الکترون (ETR).

Figure 9. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on electron transport rate (ETR).

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برخی از صفات فتوسنتزی گیاه استویا.

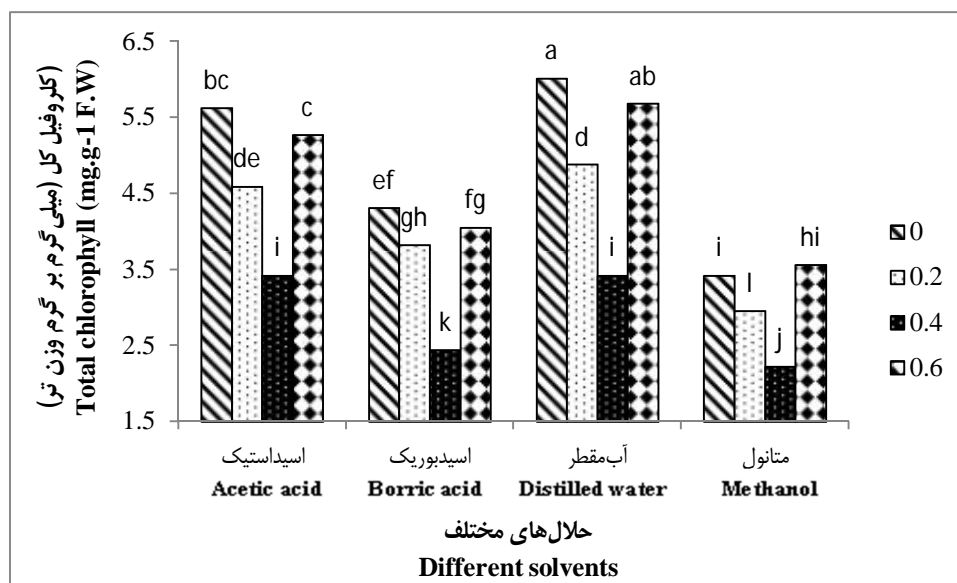
Table 2. Mean square of variation analysis of some of photosynthetic traits of stevia plant.

استوزاید Stevioside	وزن خشک برگ Leaf dry matter	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل کل Total Chlorophyll	انتقال الکترون ETR	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of variations
29.083**	0.156*	2.143**	25.126**	13.133**	283.625**	3	نوع حلال Solvent type
3.060**	0.540**	0.693*	7.543**	4.223**	448.194**	3	غلظت زغال فعال Concentration of active coal
0.079 ^{ns}	0.046*	0.030 ^{ns}	1.670*	1.623*	182.025**	9	نوع حلال × غلظت زغال فعال Solvent type × Concentration of active coal
0.051	0.019	0.023	0.038	0.015	21.113	32	خطا Error
						47	کل Total

***, ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱، ۰/۰۵ و عدم تفاوت معنی‌دار.

***, ** and ns represent significance level of 0.01, 0.05 and non-significant difference, respectively.

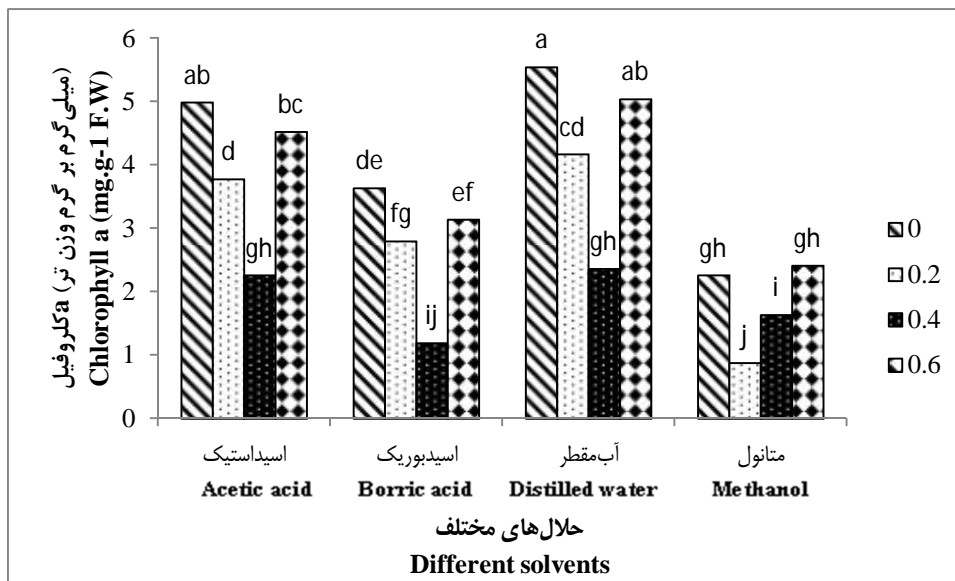
کلروفیل کل: با توجه به جدول ۲، اثر حلال‌های متفاوت (در سطح ۰/۰۱ درصد)، زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و همچنین اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر میزان کلروفیل کل معنی‌دار بود. براساس نتایج داده‌ها، به‌ترتیب در حلال‌های آب مقطر، اسید استیک، اسید بوریک و متانول بیشترین و کمترین میزان کلروفیل کل (۵/۰۲، ۴/۷۲، ۳/۹۰ و ۳/۳۰) به‌دست آمد (شکل ۱۰). غلظت ۰/۶ درصد زغال فعال بیشترین (۴/۶۴) و ۰/۴ درصد زغال فعال کمترین (۳/۳۰) مقدار کلروفیل کل را به خود اختصاص دادند (شکل ۱۰). نتایج اثرات متقابل نشان داد که تیمار آب مقطر+ صفر درصد زغال فعال دارای بیشترین (۶/۰۱) میزان کلروفیل کل نسبت به سایر تیمارها می‌باشد (شکل ۱۰). این نتایج دقیقاً از نتایج به‌دست آمده از صفتهای ذکر شده در افزایش کارایی زغال فعال و متانول تبعیت می‌نماید. این طور به‌نظر می‌رسد که کاهش غلظت زغال فعال سبب افزایش میزان کربن در غلظت بیشتر و در نتیجه جلوگیری از سنتز کلروفیل به‌علت عدم نیاز و بروز حالت بازخورد در سنتز این ماده می‌گردد.



شکل ۱۰- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر کلروفیل کل.

Figure 10. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on total chlorophyll

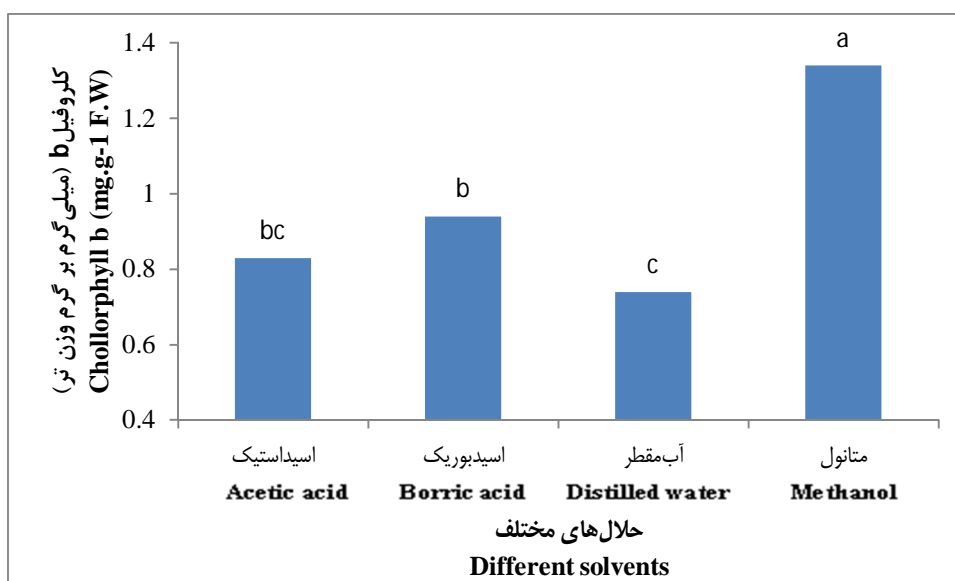
کلروفیل a: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر حلال‌های متفاوت (در سطح ۰/۰۱ درصد)، غلظت‌های مختلف زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و همچنین اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر کلروفیل a معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که حلال آب مقطر بیشترین (۴/۲۰) میزان کلروفیل a نسبت به سایر حلال‌های اسید استیک (۳/۸۹)، اسید بوریک (۲/۹۶) و متانول (۱/۰۳) را به خود اختصاص داده است (شکل ۱۱). بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل a به ترتیب در غلظت‌های ۰/۶ و ۰/۴ درصد زغال فعال (۳/۶۵ و ۱/۹۸) به دست آمد (شکل ۱۱). نتایج حاصل از بررسی اثر متقابل حلال متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال نشان داد که تیمار آب مقطر + صفر درصد زغال فعال دارای بیشترین میزان کلروفیل a می‌باشد، در حالی که کمترین مقدار آن مربوط به تیمار متانول + ۰/۲ درصد زغال فعال بود (شکل ۱۱). بنابراین می‌توان استنباط نمود که کاربرد منابع کربنی با ممانعت از از بروز آشفستگی در کلروپلاست سبب افزایش صفت بیشینه کارایی فتوشیمیایی سامانه نوری II گردیده که افزایش محتوای کلروفیل برگ سورگوم نیز می‌تواند مؤید این موضوع باشد (۲۹).



شکل ۱۱- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر کلروفیل a.

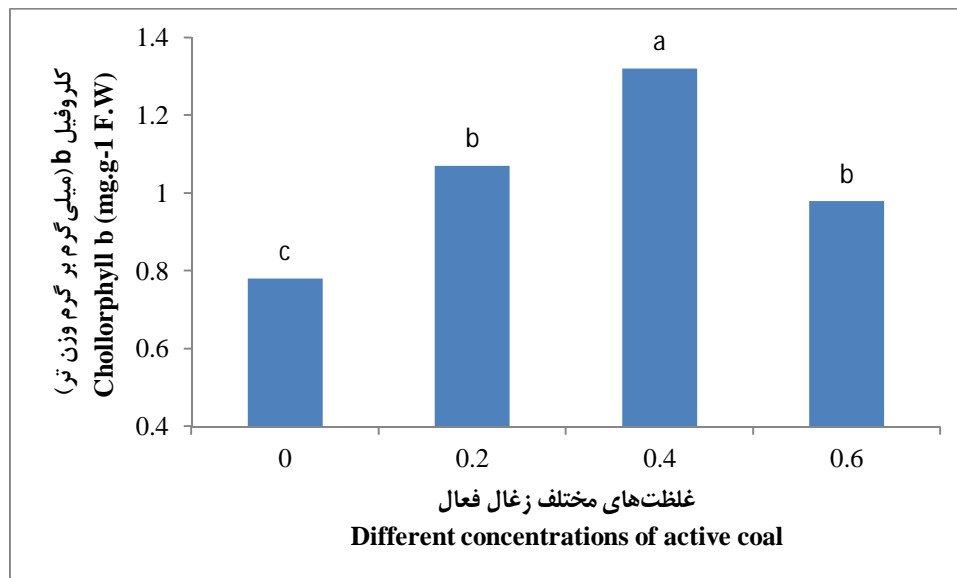
Figure 11. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on chlorophyll a.

کلروفیل b: اثر حلال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و غلظت زغال فعال (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر کلروفیل b معنی‌دار بودند در حالی که اثر متقابل این دو معنی‌دار نبود (جدول ۲). با توجه به شکل ۱۲، بیشترین مقدار کلروفیل b در حلال متانول (۱/۳۴) و کمترین میزان آن در حلال آب مقطر (۰/۷۴) مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین و کمترین (۱/۳۲ و ۰/۷۸) میزان کلروفیل b به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۰/۴ و صفر درصد زغال فعال می‌باشد (شکل ۱۳).



شکل ۱۲- اثر حلال‌های متفاوت بر کلروفیل b.

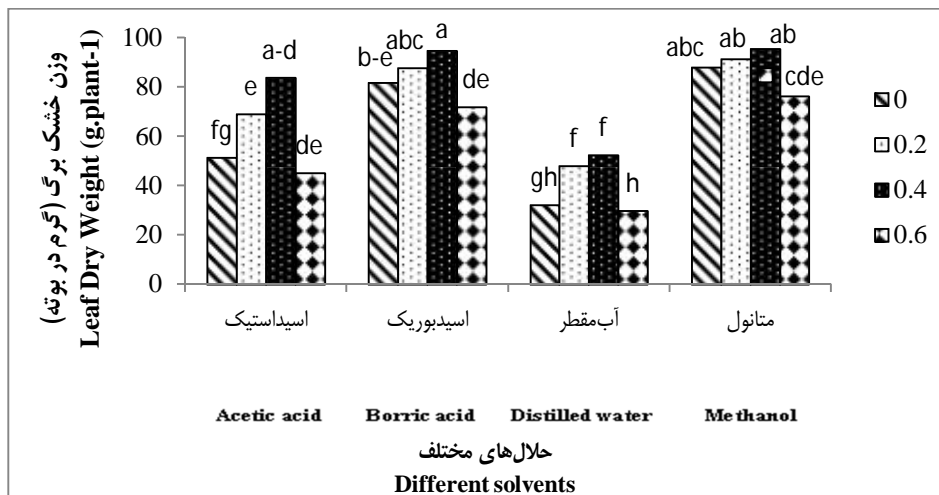
Figure 12. Effect of different solvents on chlorophyll b.



شکل ۱۳- اثر غلظت‌های مختلف زغال فعال روی کلروفیل b

Figure 13. Effect of different concentrations of active coal on chlorophyll b.

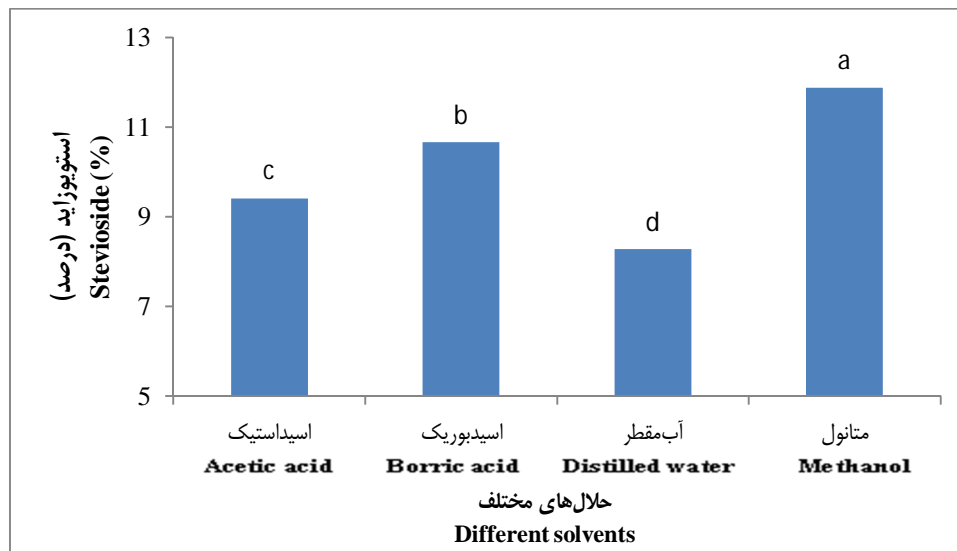
عملکرد برگ (وزن خشک برگ): با توجه به جدول ۲، اثر حلال‌های متفاوت (در سطح ۰/۰۱ درصد)، زغال فعال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و همچنین اثر متقابل این دو (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر میزان وزن خشک برگ معنی‌دار بود. براساس نتایج داده‌ها، به ترتیب در حلال‌های متانول، اسید بوریک، اسید استیک و آب مقطر بیشترین و کمترین میزان وزن خشک برگ به دست آمد (شکل ۱۳). غلظت ۰/۴ درصد زغال فعال بیشترین و ۰/۶ درصد زغال فعال کمترین مقدار وزن خشک برگ را به خود اختصاص دادند (شکل ۱۳). نتایج اثرات متقابل نشان داد که تیمار متانول + ۰/۴ درصد زغال فعال دارای بیشترین میزان وزن خشک برگ نسبت به سایر تیمارها می‌باشد (شکل ۱۳). با توجه به افزایش فتوسنتز و کارایی آن، افزایش ماده خشک نیز در نتیجه کاربرد تیمارهای مذکور حاصل شد.



شکل ۱۳- اثر حلال‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف زغال فعال بر وزن خشک برگ.

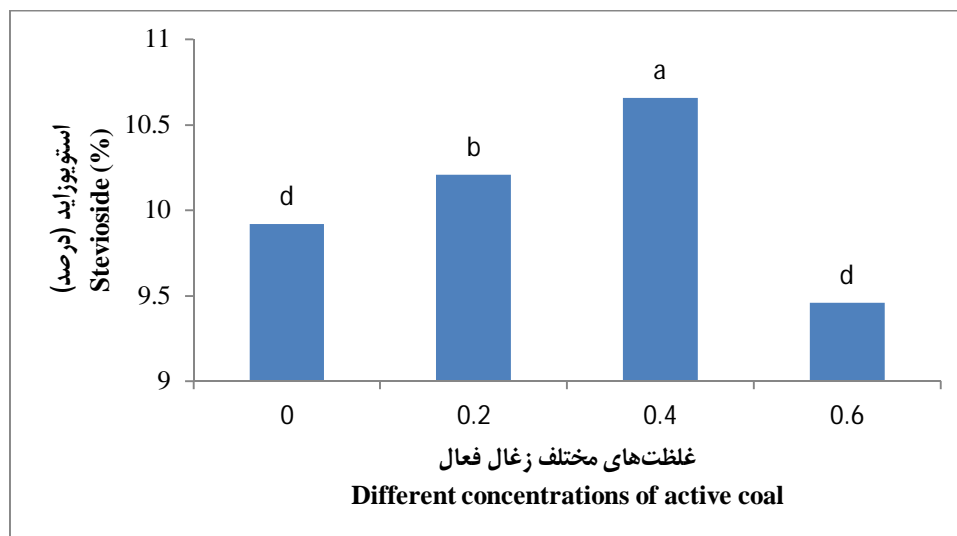
Figure 13. Effect of different solvents and different concentrations of active coal on leaf dry weight.

استویوزاید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر حلال (در سطح ۰/۰۱ درصد) و زغال فعال (در سطح ۰/۰۵ درصد) بر میزان استویوزاید معنی‌دار می‌باشد، ولی اثر متقابل این دو معنی‌دار نبود (جدول ۲). حلال متانول بیشترین (۱۱/۸۸) و سه حلال دیگر اسید بوریک (۱۰/۶۷)، اسید استیک (۹/۴۲) و آب مقطر (۸/۲۸) کمترین مقدار استویوزاید را به خود اختصاص دادند (شکل ۱۴). با توجه به شکل ۱۵، تیمار ۰/۴ و ۰/۶ درصد زغال فعال دارای بیشترین (۱۰/۶۶) و کمترین (۹/۴۶) میزان استویوزاید بودند. با افزایش میزان کلروفیل و افزایش کارایی فتوسنتز، استفاده از منبع کربنی می‌تواند در تولید متابولیت ثانویه استویوزاید نیز نقش به‌سزایی را ایفا نماید.



شکل ۱۴- اثر حلال‌های متفاوت بر میزان استویوزاید.

Figure 14. Effect of different solvents on stevioside content.



شکل ۱۵- اثر غلظت‌های مختلف زغال فعال بر میزان استویوزاید.

Figure 15. Effect of different concentrations of active coal on stevioside content.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از نظر میزان صفات فتوسنتزی اندازه‌گیری شده، بین غلظت‌های مختلف زغال فعال در تمامی حلال‌ها، اختلاف معنی‌داری وجود داشت به طوری که در بررسی برخی صفت‌ها در غلظت‌های ۰/۶ به صورت نزولی فتوسنتز در آن‌ها به حد مطلوبی رسید. هم‌چنین، بین حلال‌های متانول، اسید بُریک، اسید استیک و آب مقطر در تمامی سطوح مختلف زغال فعال از نظر ویژگی‌های فتوسنتزی تفاوت معنی‌داری نشان داد، که بیانگر مناسب بودن متانول برای حلالیت این ماده می‌باشد. شاید این تناسب به علت کوچکتر بودن ملکول متانول می‌باشد که توانایی جذب کربن و ارتقاء به ملکول‌های درشت را دارد. فلورسانس کلروفیل به طور مستقیم با غلظت و فعالیت کلروفیل در مرکز واکنش سامانه نوری‌ها ارتباط دارد. به طور مثال گزارش گردید که ایجاد هرگونه آشفته‌گی در نتیجه تنش‌های محیطی نظیر ممانعت از سنتز پروتئین‌های تیلاکوئید رمز شده توسط کلروپلاست در مقایسه با پروتئین‌های رمز شده توسط هسته سلول یا تغییر رنگیزه‌های سامانه نوری II می‌تواند سبب کاهش بیشینه عملکرد کوآنتومی سامانه نوری در شرایط سازگار با تاریکی (Fv/Fm) گردد (۱۱)، که مؤید و تأکیدی بر صحیح بودن این فرضیه می‌باشد.

در بررسی پژوهش‌های پیشین تأثیر تنش‌های محیطی بر کاهش فتوسنتز گیاهان به برخی عوامل نظیر کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش جذب کربن و متابولیسم نسبت داده شده بود (۷). بنابراین احتمال می‌رود که با اعمال منابع کربنی که به نوعی به جذب کربن توسط گیاه کمک نموده و بهبود گیاه را سبب می‌گردد، توانایی فتوشیمیایی گیاه افزایش یافته و در بهبود عملکرد نهایی گیاه تأثیرگذار باشد.

تیمار گیاه با اسید استیک به طور معنی‌داری سبزی برگ و محتوای کلروفیل را کاهش داد. بدیهی است که از یک طرف، کاهش کلروفیل کل و سطح برگ کمتر منجر به کاهش نرخ فتوسنتز می‌گردد؛ اما این بدان علت که رنگیزه کلروفیل کافی در دسترس کلروپلاست موجود نبوده نیست بلکه نشان‌دهنده این است که به احتمال زیاد مواد در دسترس گیاه نیاز آن به تولیدات فتوسنتزی را برطرف نموده و در نتیجه مقدار کلروفیل موجود در خود را با آن تطبیق می‌دهد.

استفاده از روش کلروفیل فلورسانس در سال‌های اخیر به طور وسیعی به منظور بررسی رفتار اجزای فتوسنتزی گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی مورد بررسی قرار گرفته است. این روش به دلیل غیرمخرب و مفید بودن می‌تواند اطلاعات کافی در مورد میزان و نوع پاسخ گیاهان به تنش‌های

مختلف زنده و غیرزنده ارائه نماید (۸). در نهایت می‌بایست عنوان نمود که استفاده از زغال فعال همراه با حلال مناسب آن می‌تواند نیاز مطلق به منبع کربنی موجود در هوا را کاهش داده یا جایگزین آن گردد. این پدیده به‌ویژه در فضای باز در مزرعه که این امکان را فراهم می‌نماید که مقدار کربن در اختیار گیاه را کاملاً کنترل نماید. کاری که اغلب در گلخانه‌ها در شرایط کنترل اتمسفر انجام می‌گیرد.

منابع

1. Abou-Arab, A.E., Abou-Arab, A.A., and Abu-Salem, M.F. 2010. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. *Afr. J. Food Sci.*, 4(5): 269- 281.
2. Ameri, A.A., and Nasir Mahalati, M. 2007. Effects of nitrogen application and plant densities on flower yield, essential oils, and radiation use efficiency of Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Pajouhesh Sazandegi*, 81(23): 133-144. (In Persian)
3. Ashraf, M., and Harris, P.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci.*, 166: 3-16.
4. Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59: 89-113.
5. Brandle, J.E., and Telmer, P.G. 2007. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68(14): 1855–1863.
6. Chatsudthipong, V., and Muanprasat, C. 2009. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol. Ther.*, 122: 41-54.
7. Cornic, C., and Massacci, A. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. in *Photosynthesis and Environment*, Kluwer Acad. Publish, Pp: 347-366.
8. Deell, J.R., and Toivonen, P.M.A. 2003. Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology. Kluwer Acad. Publish, Dordrecht, The Netherlands, Pp: 223-225.
9. Dongsansuk, A., Lütz, C., and Neuner, G. 2013. Effects of temperature and irradiance on quantum yield of PSII photochemistry and xanthophyll cycle in a tropical and a temperate species. *Photosynthetica*, 51(1): 13-21.
10. Eliane, C.P., Letícia, M., Gonçalves, M., Auxiliadora, M.G., Claudete, A.M., and Maria, F. 2012. Activated charcoal and graphite for the micropropagation of *Cattleya bicolor* Lindl. and a orchid double-hybrid 'BLC Pastoral Innocence'. *Maringá*, 34(2): 157-161.
11. Francheboud, Y., and Leipner, J. 2003. The application of chlorophyll fluorescence to study light, temperature and drought stress. Boston: Kluwer Acad. Publish, Pp: 125-150.

12. Genty, B., Briantais, J.M., and Baker, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys.*, 990: 87–92.
13. Guo, R.F., Yuan, G.F., and Wang, Q.M. 2011. Effect of sucrose and manitol on the accumulation of health-promoting compounds and the activity of metabolic enzymes in broccoli sprouts. *Sci. Hort.*, 128: 159–165.
14. Gussin, E.J., and Lynch, J.M. 1982. Effect of local concentrations of acetic acid around barley roots on seedling growth. *New Phytol.*, 92: 345-348.
15. Hájek, J., Barták, M., and Dubová, J. 2006. Inhibition of photosynthetic processes in foliose lichens induced by temperature and osmotic stress. *Biol. Plant.*, 50(4): 624-634.
16. Hasani, Z., Pirdashti, H., Yaghoobian, Y., and Zaman Nouri, M. 2014. Application of chlorophyll fluorescence technique to evaluate the tolerance of Rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to cold temperature and water stresses. *J. Cell Tissue*, 5(2): 195-206.
17. Jalilian, A., Ghobadi, R., and Farnia, A. 2010. Response of some photosynthesis system traits and leaf relative water content of corn on different amounts of nitrogen fertilizer in different irrigation regims. 5th Congress on New Ideas in Agriculture, Isfahan, Iran. (In persian)
18. Jaswant, S., Sharma, K.K., Mann, S.S., Singh, R., and Grewal, G.P.S. 1994. Effect of different chemicals on yield and fruit quality of «LeConte» pear. *Acta Hort.* 367: 210-212.
19. Javadipour, Z., Movahhedi Dehnavi, M., and Balouchi, H.R. 2012. Evaluation of photosynthesis parameters, chlorophyll content and fluorescence of safflower cultivars under saline condition. *J. Crop Prod.* 6(2): 35-56.
20. Kiani, Sh. 2011. Effect of iron on efficiency and photochemical yield map of photosynthetic system II of rose flower by means of chlorophyll fluorescence photography. *Sci. Technol. Greenhouse Cultures.* 2(8): 25-33.
21. Krause, G.H., Winter, K., and Krause, B. 2010. High-temperature tolerance of a tropical tree, *Ficus insipida*: methodological reassessment and climate change considerations. – *Funct. Plant Biol.* 37: 890-900.
22. Lazár, D. 1999. Chlorophyll a fluorescence induction. *Biochem. Biophys.* 1412; 1–28.
23. Lynch, J.M. 1980. Effects of organic acids on the germination of seeds and growth of seedlings. *Plant Cell Environ.* 3: 255-259.
24. Mashayekhi, K., and Atashi, S. 2012. Effect of foliar application of boron and sucrose on biochemical parameters of “Camarosa” strawberry. *J. Plant Prod.* 19(4): 157-172.
25. Maxwell, K., Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51: 659–668.
26. Me'rajipour, M., Movahhedi Dehnavi, M., Dehdari, A., Faraji, H., and Me'rajipour, M. 2012. Effect of drought stress on some physiological attributes

- of spring *Carthamus tinctorius* in Yasouj region. Environ. Stresses Agric. Sci. 5(2): 125-134.
27. Mishra, A., Mishra, K.B., Hörmiller, I.I., Heyer, A.G., and Nedbal, L. 2011. Chlorophyll fluorescence emission as a reporter on cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* accessions. Plant Signaling Behav. 6: 301-310.
28. Moraes, L., Faria, R.T., and Cuquel, F.L. 2005. Activated charcoal for in vitro propagation of Brazilian orchids. Acta Hort. 683(3): 383-389.
29. Netondo, G.W., Onyango, J.C., and Beck, E. 2004. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Sci. 44: 806-811.
30. Nonomura, A.M., and Benson, A.A. 1992. The path of carbon in photosynthesis: methanol and light. Res. Photosynthesis, 3: 911-914.
31. Paknejad, F., Nasri, M., Tohidi Moghadam, H.R., Zahedi, H., and Jami Alahmad, M. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. J. Biol. Sci., 7: 841-847.
32. Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effect on plant. Annu. Rev. Ecol. Environ. Safety, 60: 324-342.
33. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*., Photosynthesis Res., 73: 149-156.
34. Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., and Sheen, J. 2006. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. Annu. Rev. Plant Biol., 57: 675-709.
35. Takahashi, S., and Murata, N. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? Trends Plant Sci., 13: 178-182.
36. Tanaka, O. 1988. Isolation of sweetener from *Stevia rebaudiana*. Japanese Kokai, 63: 177-764.
37. Yamasaki, T., Yamakawa, T., and Yamane, M. 2002. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter-wheat. Plant Physiol. 128: 1087-1097.
38. Yue-jin, Z., Yue-qin, Y., Shan-shan, L., and Xian-feng, Y. 2008. Effect of Methanol on Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence of Flag Leaves of Winter Wheat. Agric. Sci. China. 714: 432-443.
39. Zhao, G.Q., Ma, B.L., and Ren, C.Z. 2007. Growth, Gas Exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. J. Crop Sci., 41: 123-131.

