

## تأثیر محلول پاشی متانول بر ویژگی‌های فتوسنتزی، فلوئورسانس کلروفیل و محتوای کلروفیل نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش خشکی

سعیدرضا حسین‌زاده<sup>۱</sup>، اعظم سلیمی<sup>۱</sup>، علی گنجعلی<sup>۲\*</sup> و راهله احمدپور<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

<sup>۳</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء، بهبهان، ایران

### چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی متانول بر ویژگی‌های فتوسنتزی، فلوئورسانس و محتوای کلروفیل در گیاه نخود تحت تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شهریورماه سال ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. محلول پاشی متانول در ۵ سطح: شاهد (بدون محلول پاشی)، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی انجام شد که به هر کدام از سطوح ۲ گرم در لیتر گلاسیسین اضافه شد. محلول پاشی با فواصل ۱۰ روز و ۳ بار طی فصل رشد گیاهان انجام شد. محلول پاشی گیاهچه‌ها تا زمان جاری شدن قطره‌های محلول روی برگ ادامه یافت. عامل خشکی شامل تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بود. نتایج نشان داد بین سطوح مختلف متانول اختلاف معنی‌داری از نظر تثبیت CO<sub>2</sub>، تعرق، هدایت روزنه‌ای، عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی، CO<sub>2</sub> درون سلولی و محتوای کلروفیل پس از هر بار محلول پاشی وجود داشت (P≤0.01). مقایسه میانگین ویژگی‌های بررسی شده نشان داد که سطح ۳۰ درصد حجمی متانول پس از هر بار محلول پاشی بیشترین مقادیر این صفات را داشت. آثار متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری (P≤0.05) بر میزان تثبیت CO<sub>2</sub>، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای، عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی، CO<sub>2</sub> درون سلولی و محتوای کلروفیل پس از هر محلول پاشی داشت. به طور کلی، با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که محلول پاشی برگی متانول صفات فتوسنتزی، عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی (Fv/Fm) و محتوای کلروفیل را در شرایط تنش خشکی بهبود می‌بخشد.

**واژه‌های کلیدی:** تنش خشکی، عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی، متانول، ویژگی‌های فتوسنتزی

## مقدمه

تنش خشکی عامل بر هم زنده تعادل از طریق اختلال در فرآیندهای زیستی و فیزیولوژیک در گیاه است (Ober, 2001). تنش خشکی همراه با تابش زیاد و افزایش دما باعث افزایش میزان بازدارندگی نوری می‌شود. اثر خشکی و نور زیاد باعث اختلال در وظایف فتوشیمیایی فتوسیستم II شده، سبب بازدارندگی در انتقال الکترون می‌شود (Lu *et al.*, 2002). علاوه بر محدودیت فرآیندهای نوری ورود  $CO_2$  نیز کم شده، انتقال الکترون در اثر محدودیت  $CO_2$  کاهش یافته و قدرت تثبیت کربن نیز محدود می‌شود (Boyer *et al.*, 1987). افزایش غلظت دی اکسید کربن می‌تواند اثر ناشی از تنش خشکی را خنثی کند (Zbiec *et al.*, 1999). یکی از راهکارهای افزایش غلظت دی اکسید کربن در گیاهان استفاده از ترکیباتی نظیر: متانول، اتانول، پروپانول، بوتانول و همچنین، استفاده از آمینو اسیدهای گلیسین، گلوتامات و آسپاراتات است (Nonomura and Benson, 1992). در بین این ترکیبات متانول ماده کاملاً شناخته شده‌ای برای گیاهان است، زیرا این ماده یکی از ساده‌ترین فرآورده‌های گیاهی است که به ویژه طی رشد برگ‌ها و در اثر دمتیلاسیون پکتین در دیواره‌های سلولی گیاهان تولید می‌شود (Mudgett and Clarke, 1993; Fall and Benson, 1996; Haston and Roj, 2001). پس از تولید این ماده آلی فرار در داخل گیاهان، مقداری از آن از برگ‌ها خارج و وارد لایه مرزی و سپس اتمسفر می‌شود (Mudgett and Clarke, 1993; Fal and Benson, 1996) و بخش دیگر آن تبدیل به فرم آلدئید، سپس به فرمیک

اسید و در نهایت، به  $CO_2$  تبدیل می‌شود.  $CO_2$  تولید شده می‌تواند روی تثبیت  $CO_2$  در گیاهان اثر گذارد (Galbal and Kristine, 2002). برای تعیین وضعیت فیزیولوژیک گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی از روشی به نام سنجش فلوئورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. در واقع، میزان فلوئورسانس کلروفیل به عنوان تابعی از فعالیت فتوسنتزی برگ می‌تواند در تشخیص مدت تنش‌های محیطی استفاده شود (Lichtenthaler and Burkart, 1999). از فلوئورسانس کلروفیل در برنامه‌های اصلاحی نظیر بهبود تحمل به سرما در ذرت و برنج و همچنین، مقاومت به گرما در آفتابگردان (Wilson and Greaves, 1993) و تحمل به تنش خشکی در سیب‌زمینی استفاده شده است (Ranalli *et al.*, 1997). مشخص شده است که کاربرد متانول باعث کاهش اندازه فتوسیستم I و II در ۲۰ ساعت نخستین محلول‌پاشی شده است که به جذب کمتر نور و حفظ سیستم فتوسنتزی منجر شده است (Khafagi *et al.*, 1997). مهم‌ترین مزیت متانول جلوگیری و کاهش اثر تنش‌های القا شده به گیاهان زراعی در اثر انجام تنفس نوری در آنهاست (Nonomura and Benson, 1992). تحت شرایط تنش خشکی با محلول‌پاشی متانول محتوای کلروفیل در برگ لوبیا افزایش یافته است (Mohammadian *et al.*, 2003). در برگ گندم، مو و یولاف نیز مقدار کلروفیل پس از محلول‌پاشی با متانول افزایش معنی‌داری یافته است (Ramadant and Omran, 2005). متابولیسم متانول به افزایش قندسازی در برگ‌ها منجر می‌شود که در نتیجه، فشار آماس و سرعت تثبیت و رشد در گیاهان

رشد در ماه اول با درجه حرارت روز و شب به ترتیب ۲۱ و ۸ درجه سانتیگراد و ۱۲/۵ ساعت روشنایی و ۱۱/۵ ساعت تاریکی و در ماه دوم در درجه حرارت روز و شب به ترتیب: ۲۷ و ۱۲ درجه سانتیگراد و ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون در متر مربع در ثانیه مطابق با میانگین تقریبی داده‌های هواشناسی مناطق تولید نخود قرار گرفتند. محلول پاشی در سه مرحله طی فصل رشد گیاه و با فواصل زمانی ۱۰ روز انجام شد. نخستین محلول پاشی طی مرحله رویشی در ۲۱ شهریورماه به فاصله ۴ هفته پس از کاشت و محلول پاشی‌های دیگر به ترتیب در اوایل گل‌دهی و اوایل غلاف‌دهی انجام شد. شیوه محلول پاشی به این شکل انجام شد که روی همه قسمت‌های بوته نخود قطرات محلول جاری شد. صفات مورد نظر یک روز پس از هر محلول پاشی اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان کلروفیل از دستگاه کلروفیل متر (مدل cl-01 شرکت Hansatech، ساخت انگلستان) استفاده شد. اندازه‌گیری میزان آسمیلاسیون دی اکسید کربن، میزان تعرق، غلظت CO<sub>2</sub> درون برگ گیاهان و هدایت روزنه‌ای با دستگاه اندازه‌گیری میزان فتوسنتز (مدل LCA4، شرکت ADC، ساخت انگلستان) انجام شد. سنجش عملکرد فتوسیستم II توسط دستگاه کلروفیل فلورومتر (مدل OS5-FI، شرکت Hansatech، ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد. برای رعایت شرایط یکنواخت در همه گیاهچه‌ها، اندازه‌گیری روی برگ دوم گیاه نخود ۲۴ ساعت پس از هر محلول پاشی انجام شد. پردازش داده‌ها با نرم‌افزار Mstat-C و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $P \leq 0.05$ ) انجام شد.

تیمار شده با آن افزایش می‌یابد (Rajala *et al.*, 1998). مشخص شده است که متانول باعث افزایش هدایت روزنه‌ای، کاهش دمای برگ، کاهش میزان تعرق، افزایش شاخص سطح برگ و افزایش دوام برگ نیز می‌شود (Makhdom *et al.*, 2002). با توجه به ویژگی‌های ضد تنش متانول هدف اصلی پژوهش حاضر، اثر متانول بر فعالیت دستگاه فتوسنتزی برگ نخود تحت شرایط تنش خشکی است.

## مواد و روش‌ها

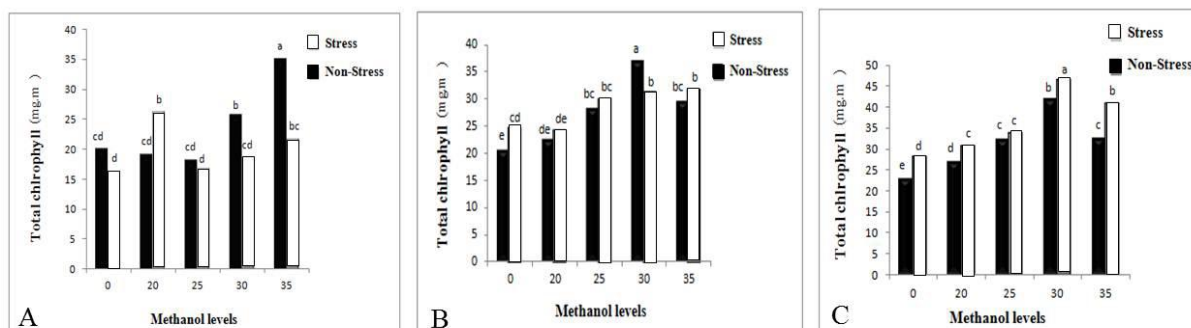
برای بررسی اثر تنش خشکی و محلول پاشی متانول بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی نخود (رقم کرج) آزمایشی در شهریورماه ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای بررسی شده در این آزمایش عبارتند از: متانول در ۵ سطح شامل: شاهد (بدون محلول پاشی)، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی که به هر کدام از محلول‌ها دو گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. عامل خشکی نیز شامل شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) در نظر گرفته شد. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان به حجم ۲/۵ لیتر بود که از ماسه و خاک مزرعه به نسبت ۳:۱ پر شد. برای تهیه خاک هر گلدان، خاک تهیه شده ابتدا از صافی‌هایی با منافذ دو میلی‌متری عبور داده شد و سپس به میزان دو کیلوگرم از این خاک الک شده در گلدان‌ها ریخته شد. درصد رطوبت خاک از طریق اندازه‌گیری درصد وزنی روزانه رطوبت خاک و اضافه نمودن آب مصرفی توسط هر گلدان تنظیم شد. گلدان‌ها در اتاقک

## نتایج

## محتوای کلروفیل

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محلول‌پاشی اول نشان داد که متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر محتوای کلروفیل دارند (جدول ۱-الف). در غلظت‌های مختلف متانول بیشترین میزان کلروفیل متعلق به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان کلروفیل متعلق به سطح شاهد بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲-الف). در برهمکنش متقابل تنش خشکی و متانول بیشترین میزان کلروفیل در سطح ۳۰ درصد حجمی در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی دیده شد. کمترین مقدار کلروفیل در سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مشاهده شد (شکل ۱- A). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در محلول‌پاشی دوم نشان داد که اثر محلول‌پاشی متانول بر میزان کلروفیل معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود. این صفت به شکل معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت. اثر متقابل متانول و تنش نیز بر میزان کلروفیل معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود (جدول ۱-ب). در تیمارهای متانول، محلول‌پاشی با

سطح ۳۰ درصد بیشترین میزان کلروفیل را داشت که با سطح ۳۵ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان کلروفیل نیز متعلق به سطح شاهد بود که با سطوح ۲۰ و ۲۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲-ب). در برهمکنش متقابل متانول و تنش سطح ۳۰ درصد حجمی در تیمار بدون تنش بیشترین میزان کلروفیل را داشت که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. سطح شاهد در تیمار بدون تنش خشکی کمترین میزان را داشت (شکل ۱- B). نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول‌پاشی سوم نشان داد که محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر محتوای کلروفیل داشت (جدول ۱-ج). در بین تیمارهای محلول‌پاشی بیشترین میزان کلروفیل در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول مشاهده شد که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان نیز به سطح شاهد تعلق داشت (جدول ۲-ج). در آثار متقابل، سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش بیشترین میزان کلروفیل را داشت و کمترین میزان کلروفیل به سطح شاهد در تیمار بدون تنش خشکی مربوط بود (شکل ۱- C).



شکل ۱- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل. (A) محلول‌پاشی اول، (B) محلول‌پاشی دوم، (C) محلول‌پاشی سوم. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

جدول ۱- تجزیه واریانس مؤلفه‌های فتوسنتزی مربوط به محلول پاشی اول (الف)، دوم (ب) و سوم (ج).<sup>ns</sup>، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

(الف)

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای کلروفیل	جذب CO <sub>2</sub>	هدایت روزنه‌ای	CO <sub>2</sub> درون سلولی	تعرق	عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی
میانگین مربعات							
متانول	۴	۲۲۶/۱۸۱ **	۴۷/۴۴۱ **	۰/۴۵۴ **	۰/۶۲۵ **	۰/۰۶۲ **	۹۱۳۵/۳۶۷ **
تنش	۱	۲۰۹/۴۰۵ **	۶۳۷/۵۶۳ **	۴/۱۲۲ **	۱۷/۶۱۸ **	۰/۰۱۹ **	۱۳۲۰/۰۳۳ <sup>ns</sup>
متانول×تنش	۴	۴۰/۳۸۹ **	۱۲/۵۵۳ **	۰/۲۳۱ **	۰/۱۲۷ **	۰/۰۱۳ **	۸۲۰۳/۳۶۷ **
خطای آزمایش	۲۰	۵/۵۳۱	۰/۳۹۸	۰/۰۰۶	۰/۰۲۶	۰/۰۰۰۴۸۷	۵۶۷/۸۰۰
ضریب تغییرات (%)	-	۸/۵۴	۸/۲۸	۹/۰۳	۹/۰۲	۲/۶۹	۴/۸۵

(ب)

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای کلروفیل	جذب CO <sub>2</sub>	هدایت روزنه‌ای	CO <sub>2</sub> درون سلولی	تعرق	عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی
میانگین مربعات							
متانول	۴	۱۴۳/۰۷۸ **	۱۵۴/۵۶۸ **	۰/۱۰۹ **	۰/۷۱۰ **	۰/۰۲۱ **	۸۹۹۳/۴۱۹ **
تنش	۱	۱/۸۷۴ <sup>ns</sup>	۱۱۹/۳۲۱ **	۶/۰۰۳ **	۷/۱۷۴ **	۰/۰۱۰ **	۷۶۷۳/۶۰۳ **
متانول×تنش	۴	۲۴/۶۳۷ *	۲۴/۶۹۵ **	۰/۰۲۱ *	۰/۰۶۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ **	۶۵۷/۷۶۹ **
خطای آزمایش	۲۰	۶/۱۵۹	۲/۳۹۵	۰/۰۰۷	۰/۰۲۹	۰/۰۰۰۲۳۹	۱۳۴/۳۷۳
ضریب تغییرات (%)	-	۸/۹۲	۱۱/۶۷	۱۰/۸۳	۱۴/۳۱	۱/۷۱	۱/۸۱

(ج)

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای کلروفیل	جذب CO <sub>2</sub>	هدایت روزنه‌ای	CO <sub>2</sub> درون سلولی	تعرق	عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی
میانگین مربعات							
متانول	۴	۳۱۵/۸۱۹ **	۲۰۶/۰۲۱ **	۰/۲۱۲ **	۰/۴۲۸ **	۰/۰۳۱ **	۳۱۵۳/۶۶۶ **
تنش	۱	۱۵۳/۹۰۷ **	۱۸۲/۹۷۸ **	۴/۰۸۵ **	۳/۱۴۹ **	۰/۰۲۹ *	۲۸۹۷۳/۳۹۸ **
متانول×تنش	۴	۹/۳۶۲ *	۱۴/۴۱۱ **	۰/۰۳۲ **	۰/۰۴۳ **	۰/۰۲۹۶ **	۵۳۱/۲۷۷ **
خطای آزمایش	۲۰	۲/۴۴۹	۰/۷۳۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۵۶	۷۰/۷۰۹
ضریب تغییرات (%)	-	۴/۶۶	۵/۵۰	۷/۶۷	۶/۵۷	۰/۸۱	۱/۴۳

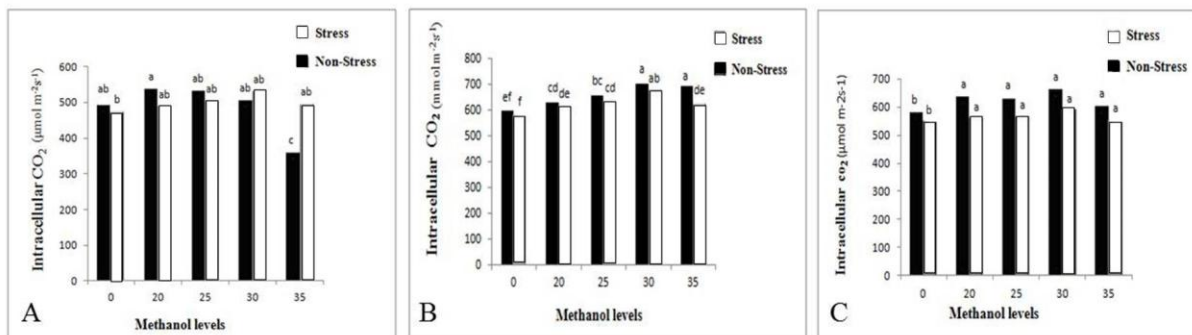
**تثبیت CO<sub>2</sub>**

بر تثبیت CO<sub>2</sub> داشت (جدول ۱-الف). در بین تیمارهای محلول پاشی اول، متانول با غلظت ۳۰ درصد بیشترین میزان تثبیت CO<sub>2</sub> و سطح ۳۵ درصد حجمی کمترین میزان را داشت (جدول ۲-الف). در برهمکنش متانول و

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول پاشی اول نشان داد که محلول پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی داری (P≤0.01)

مشاهدات در محلول‌پاشی سوم نشان داد که محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر تثبیت  $CO_2$  داشت (جدول ۱-ج). در بین تیمارهای محلول‌پاشی سوم نیز غلظت ۳۰ درصد حجمی متانول بود که بیشترین میزان تثبیت  $CO_2$  را داشت که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشت. کمترین میزان این صفت نیز در سطح شاهد مشاهده شد که با سطح ۳۵ درصد حجمی متانول تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲-ج). در برهمکنش متانول و تنش خشکی بیشترین میزان تثبیت به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی متعلق بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان تثبیت نیز به سطح شاهد مربوط بود (شکل ۲-ج).

تنش خشکی بیشترین میزان تثبیت در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مشاهده شد و کمترین میزان به سطح ۳۵ درصد حجمی در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی متعلق بود (شکل ۲-ا). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در محلول‌پاشی دوم نشان داد که محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر تثبیت  $CO_2$  داشت (جدول ۱-ب). سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین و سطح شاهد کمترین میزان تثبیت  $CO_2$  را داشت (جدول ۲-ب). در اثر متقابل متانول و تنش خشکی، بیشترین میزان تثبیت  $CO_2$  در سطح ۳۰ درصد حجمی در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی و کمترین میزان آن در سطح شاهد مشاهده شد (شکل ۲-ب). نتایج تجزیه واریانس



شکل ۲- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر تثبیت  $CO_2$  (A) محلول‌پاشی اول، (B) محلول‌پاشی دوم، (C) محلول‌پاشی سوم. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

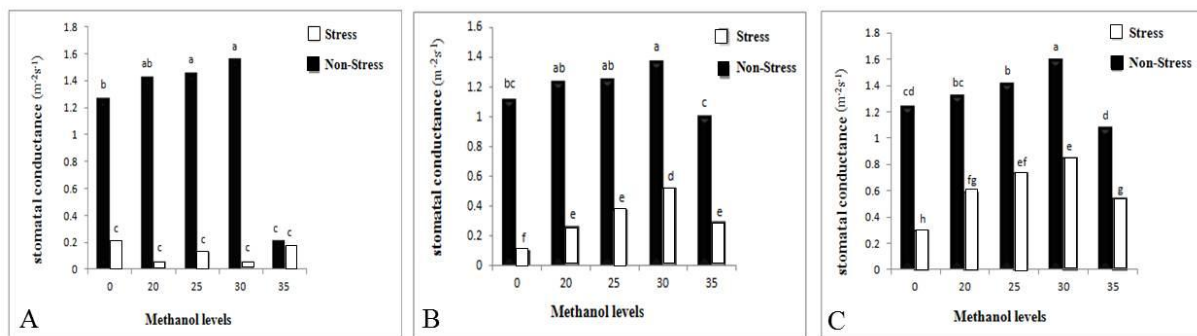
داشت و کمترین میزان هدایت روزنه‌ای در سطح ۳۵ درصد حجمی متانول مشاهده شد (جدول ۲-الف). در برهمکنش متقابل متانول و تنش بیشترین مقدار هدایت روزنه‌ای در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مشاهده شد و کمترین مقدار این صفت به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در

## هدایت روزنه‌ای

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول‌پاشی اول نشان داد که محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول بر میزان هدایت روزنه‌ای گیاه معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۱-الف). سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین میزان بر این صفت را

که با دیگر سطوح اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۳-۱). نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول پاشی سوم نشان داد که محلول پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول بر میزان هدایت روزنه‌ای گیاه معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۱-ج). در آثار ساده متانول در محلول پاشی سوم بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول متعلق بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی داری نداشت. کمترین میزان این صفت به سطح شاهد مربوط بود که با سطح ۳۵ درصد حجمی تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۲-ج). در برهمکنش متقابل متانول و تنش خشکی بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مشاهده شد. کمترین میزان این صفت به سطح شاهد در تیمار تنش خشکی متعلق داشت (شکل ۳-۲).

هر دو تیمار تنش و بدون تنش متعلق بود (شکل ۳-۱). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در محلول پاشی دوم نشان داد که اثر محلول پاشی متانول و تنش خشکی بر میزان هدایت روزنه‌ای معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) بود. برهمکنش متانول و تنش خشکی نیز بر هدایت روزنه‌ای تأثیر معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) داشت (جدول ۱-ب). در بین تیمارهای محلول پاشی سطح ۳۰ درصد حجمی بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای را داشت که با سطح ۲۵ درصد حجمی تفاوت معنی داری نداشت. کمترین میزان این صفت نیز در سطح شاهد مشاهده شد که با سطوح ۲۰ و ۳۵ درصد تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۲-ب). در اثر متقابل متانول و تنش خشکی بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مربوط بود و کمترین میزان این صفت به سطح شاهد در تیمار تنش خشکی متعلق بود



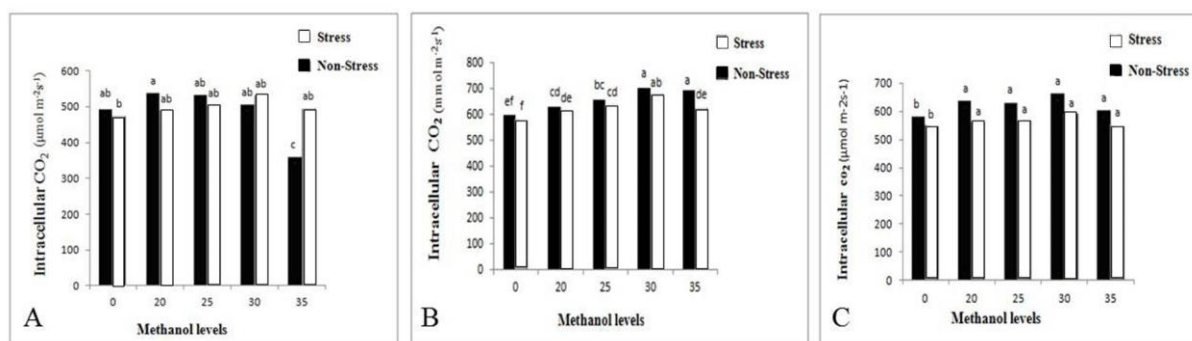
شکل ۳- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر هدایت روزنه‌ای. (A) محلول پاشی اول، (B) محلول پاشی دوم، (C) محلول پاشی سوم. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

بر غلظت  $CO_2$  درون سلولی در سطوح مختلف متانول نسبت به شاهد افزایش داشت، با وجود این، معنی دار نبود. سطح ۳۵ درصد حجمی متانول کمترین میزان  $CO_2$  درون سلولی را داشت که در گروه آماری جداگانه‌ای نسبت به دیگر سطوح قرار گرفت (جدول

**غلظت  $CO_2$  درون برگ**  
نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول پاشی اول نشان داد که محلول پاشی متانول و آثار متقابل متانول و تنش تأثیر معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) بر میزان  $CO_2$  درون سلولی داشت (جدول ۱-الف). اثر متانول

دو تیمار تنش و بدون تنش متعلق بود. کمترین میزان این صفت نیز در سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مشاهده شد (شکل B). نتایج تجزیه واریانس در محلول‌پاشی سوم نشان داد که اثر محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و آثار متقابل متانول و تنش بر میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) شد (جدول ۱-ج). در بین تیمارهای محلول‌پاشی بیشترین میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول متعلق بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان این صفت به سطح شاهد مربوط بود که با سطح ۳۵ درصد حجمی متانول تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲-ج). در برهمکنش متقابل متانول و تنش مشاهده شد که غلظت‌های مختلف متانول اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند، با وجود این، تفاوت آنها با شاهد معنی‌دار بود (شکل ۴-ج).

۲-الف). این کاهش را می‌توان به آثار سمی متانول در این غلظت نسبت داد. در برهمکنش متقابل متانول و تنش کمترین  $\text{CO}_2$  درون سلولی به سطح ۳۵ درصد حجمی در تیمار بدون تنش خشکی متعلق بود و بیشترین میزان این صفت در سطح ۲۰ درصد حجمی متانول در تیمار بدون تنش خشکی مشاهده شد که با دیگر سطوح به جز سطح ۳۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۴-ا). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در محلول‌پاشی دوم نشان داد که اثر محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و آثار متقابل متانول و تنش بر میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) شد (جدول ۱-ب). در بین تیمارهای محلول‌پاشی سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین و سطح شاهد کمترین میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی را داشت (جدول ۲-ب). در آثار متقابل متانول و تنش بیشترین میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول در هر



شکل ۴- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی. (A) محلول‌پاشی اول، (B) محلول‌پاشی دوم، (C) محلول‌پاشی سوم. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

تعرق گیاه داشت (جدول ۱-الف). در بین تیمارهای محلول‌پاشی متانول سطح شاهد بیشترین میزان تعرق و سطح ۳۰ درصد حجمی متانول کمترین میزان تعرق را داشت (جدول ۲-الف). در آثار متقابل متانول و تنش

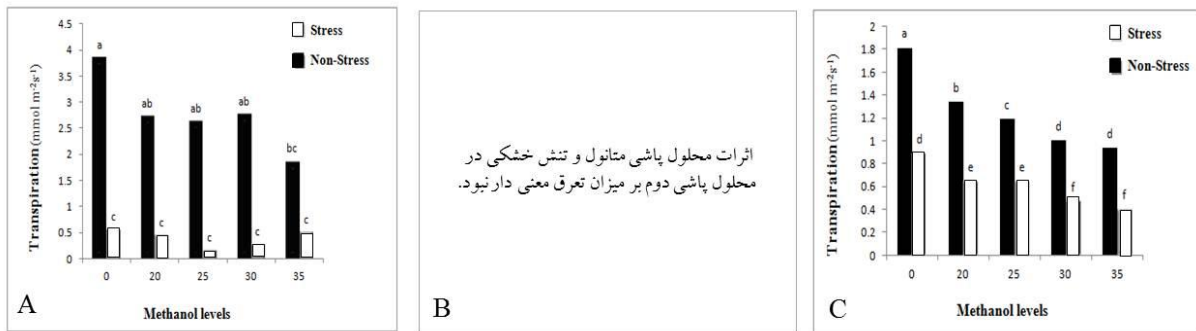
## تعرق

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول‌پاشی اول نشان داد که محلول‌پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر میزان



ب). نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در محلول پاشی سوم نشان داد که تنش خشکی ( $P \leq 0.05$ ) محلول پاشی متانول و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر میزان تعرق گیاه داشت (جدول ۱-ج). سطح شاهد بیشترین میزان تعرق و سطح ۳۵ درصد حجمی کمترین میزان تعرق در بین تیمارهای محلول پاشی داشت (جدول ۲-ج). در برهمکنش تنش خشکی و متانول بیشترین میزان تعرق به سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مربوط بود. کمترین میزان تعرق در سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی دیده شد (شکل ۵-ج).

سطح شاهد در تیمار بدون تنش خشکی بیشترین میزان تعرق و سطح ۲۵ درصد متانول در تیمار تنش خشکی کمترین میزان تعرق را داشت که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۵-ا). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در محلول پاشی دوم نشان داد که اثر محلول پاشی متانول و تنش خشکی بر میزان تعرق معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود. اثر متقابل تنش و متانول بر میزان تعرق معنی‌دار نبود (جدول ۱-ب). در بین آثار ساده متانول سطح شاهد بیشترین میزان تعرق را داشت و به سطح ۳۵ درصد حجمی کمترین میزان تعرق اختصاص داشت که با سطوح ۳۰ و ۲۵ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲-ب).



شکل ۵- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان تعرق. (A) محلول پاشی اول، (B) محلول پاشی دوم، (C) محلول پاشی سوم. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

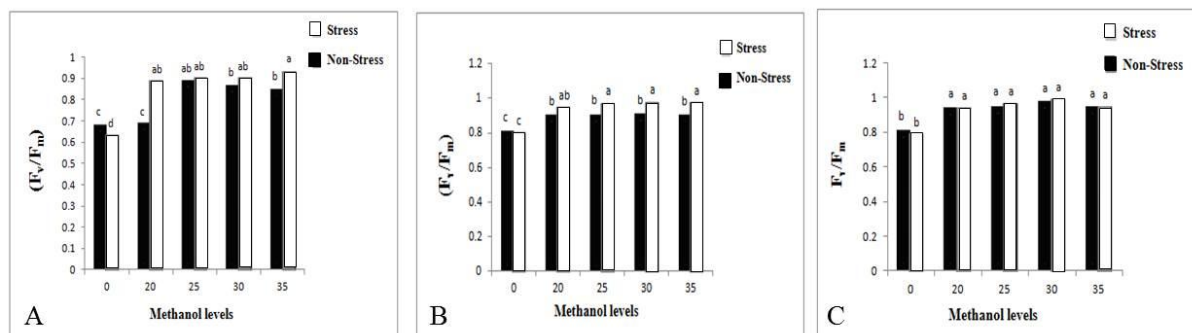
گروه آماری قرار گرفتند، با وجود این، تفاوت آنها با شاهد معنی‌دار بود (جدول ۲-الف، ب و ج). در برهمکنش متانول و تنش خشکی در محلول پاشی اول نتایج نشان می‌دهد که از نظر عملکرد کوآنتوم سطوح مختلف متانول هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی در یک گروه آماری قرار گرفتند، ولی تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند (شکل ۶-ا). در آثار متقابل متانول و تنش در محلول پاشی دوم بیشترین میزان عملکرد کوآنتوم به سطح ۳۰ درصد حجمی در تیمار

### عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی (Fv/Fm)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در محلول پاشی اول، دوم و سوم نشان داد که تأثیر محلول پاشی متانول، تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر کارآیی فتوسیستم II داشت، در محلول پاشی دوم اثر تنش خشکی بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱-الف، ب و ج). در بین تیمارهای محلول پاشی (اول، دوم و سوم) غلظت‌های مختلف متانول اختلاف معنی‌داری باهم نداشته، در یک

سوم بیشترین میزان عملکرد کوآنتوم ( $F_v/F_m$ ) به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش خشکی متعلق بود که با دیگر سطوح متانول در تیمار تنش خشکی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین آن به سطح شاهد در تیمار تنش خشکی تعلق داشت (شکل ۶- C).

تنش خشکی مربوط بود که با دیگر سطوح متانول در تیمار تنش خشکی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان آن به سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مربوط بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۶- B). برهمکنش متقابل در محلول‌پاشی



شکل ۶- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر عملکرد کوآنتوم ( $F_v/F_m$ ). (A) محلول‌پاشی اول، (B) محلول‌پاشی دوم، (C) محلول‌پاشی سوم. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

بر گیاه است و باعث دسترسی بهتر گیاه به کلروفیل می‌شود (Row et al., 1994).

در شرایط تنش خشکی جذب منیزیم و احتمالاً آهن کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش میزان سنتز کلروفیل است (Keles and Oncel, 2004). محلول‌پاشی متانول باعث افزایش پتانسیل تورژسانس می‌شود و علت آن دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ است که به افزایش میزان آب قابل دسترس برای گیاه منجر می‌شود (Nonomura and Benson, 1992). به نظر می‌رسد متانول در افزایش طول، سطح ریشه و در جذب عناصر غذایی به ویژه منیزیم و آهن از خاک مؤثر واقع شده است. در مطالعاتی که بر روی گوجه‌فرنگی و فلفل انجام شده است، محلول‌پاشی متانول به همراه گلايسين مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش داده است (Row et al., 1994). مطالعات

## بحث

### محتوای کلروفیل

در مطالعه روی تنش خشکی گیاه گوجه‌فرنگی گزارش کردند که با کاهش آب قابل استفاده برای گیاهان میزان کلروفیل کل در بافت سبز برگ کاهش می‌یابد (Row et al., 1994). در این مطالعه نیز مشاهده شد که تنش خشکی در محلول‌پاشی اول و دوم به کاهش میزان کلروفیل نسبت به شرایط بدون تنش منجر شد، در حالی که در محلول‌پاشی سوم میزان کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافت. به نظر می‌رسد علت این افزایش به کوچک شدن سلول‌های برگ (به علت کاهش سطح برگ) و افزایش تراکم کلروفیل مربوط است (Paknejad et al., 2007). پایداری کلروفیل به عنوان شاخصی از تنش خشکی شناخته شده است و شاخص پایداری بالا به معنی بی‌تأثیر بودن تنش

(Johnson *et al.*, 2002). در پژوهش حاضر نیز کاهش میزان تثبیت CO<sub>2</sub> در هر سه مرحله محلول پاشی در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش مشاهده شد. افزایش غلظت دی اکسید کربن می‌تواند اثر ناشی از تنش خشکی را خنثی کند. بنابراین، به کار بردن موادی که بتواند غلظت دی اکسید کربن در گیاه را افزایش دهد، می‌تواند باعث بهبود عملکرد در شرایط خشکی نیز شود (Zbiec *et al.*, 2003). گیاهان می‌توانند متانول محلول پاشی شده روی برگ‌ها را به راحتی جذب کرده، از آن به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر استفاده کنند (Gout *et al.*, 2000). متانول پس از محلول پاشی از طریق آنزیم متانول اکسیداز تبدیل به فرمالدهید و سپس تبدیل به فرمات (متانوئیک اسید) می‌شود. در مرحله بعد، فرمات توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز به دی اکسید کربن تبدیل و باعث افزایش CO<sub>2</sub> درون سلولی در گیاه می‌شود (Nonomura and Benson, 1992). مطالعات در این زمینه نشان داده است که متانول تأثیر مثبتی بر تثبیت CO<sub>2</sub> دارد (Hemming *et al.*, 1995). نتایج حاضر با نتایج سایر پژوهشگران (Nadali *et al.*, 2010) مطابقت دارد. در بررسی که روی پنبه در مناطق خشک پاکستان انجام شد، بیشترین میزان تثبیت CO<sub>2</sub> در غلظت ۳۰ درصد حجمی متانول مشاهده شد (Makhdum *et al.*, 2002). در بررسی حاضر، در هر سه مرحله محلول پاشی متانول مشاهده شد که سطوح متانول تا غلظت ۳۰ درصد حجمی متانول به افزایش تثبیت منجر شد، اما کاهش در سطح ۳۵ درصد حجمی را می‌توان به آثار سمی متانول در غلظت‌های بالا نسبت داد.

Rajala و همکاران (۱۹۹۸) نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را پس از محلول پاشی متانول نشان داده است. تنش خشکی به افزایش رادیکال‌های آزاد منجر می‌شود که باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌شود (Flexas and Medrano, 2008). به نظر می‌رسد متانول از طریق جذب آهن که به عنوان گروه پروستتیک هموپروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است (Keles and Oncel, 2004) می‌تواند در تخریب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاه نقش داشته باشد. در این پژوهش مشاهده شد که محلول پاشی متانول در افزایش و ثبات کلروفیل نقش داشته و از این طریق به بهبود آثار مربوط به تنش خشکی در گیاه منجر شد.

### تثبیت CO<sub>2</sub>

پژوهش‌های مختلف نشان داده است که تنش خشکی باعث کاهش میزان نرخ فتوسنتز خالص و تثبیت CO<sub>2</sub> می‌شود (Flexas and Hale *et al.*, 2005). Medrano, 2008). کاهش فتوسنتز در سطوح پایین تنش خشکی به علت بسته شدن روزنه‌ها و در سطوح بالای خشکی به علت واکنش‌های تخریبی و بیوشمیایی است (Johnson *et al.*, 2002). کاهش فتوسنتز و تثبیت CO<sub>2</sub> با افزایش کارآیی مصرف آب فتوسنتزی تحت تنش خشکی همراه است. بسته شدن روزنه‌ها در طی تنش اگر چه به منظور کاهش هدر رفت آب انجام می‌شود، اما به واسطه ممانعت از ورود CO<sub>2</sub> می‌تواند فتوسنتز را به کمتر از نقطه جبرانی کاهش دهد

جدول ۲- آثار ساده متانول بر مؤلفه‌های فتوسنتزی مربوط به محلول پاشی اول (الف)، دوم (ب) و سوم (ج). حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

(الف)

تیمارها	محتوای کلروفیل	جذب $CO_2$ ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	هدایت روزنه‌ای ( $m.s^{-1}$ )	$CO_2$ درون سلولی ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	تعرق ( $mmol m^{-2} s^{-1}$ )	عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی
متانول						
شاهد	۱۸/۱۸ <sup>c</sup>	۵/۶۷۷ <sup>c</sup>	۰/۸۴۱ <sup>c</sup>	۴۸۲/۷ <sup>a</sup>	۱/۵۹۵ <sup>a</sup>	۰/۶۵۵ <sup>c</sup>
۲۰٪ حجمی	۲۴/۷۷ <sup>b</sup>	۷/۷۲۳ <sup>b</sup>	۰/۹۴۶ <sup>c</sup>	۵۱۲ <sup>a</sup>	۱/۳۰۰ <sup>b</sup>	۰/۸۰۱ <sup>a</sup>
۲۵٪ حجمی	۳۰/۷۴ <sup>a</sup>	۸/۶۷۸ <sup>b</sup>	۰/۹۹۵ <sup>b</sup>	۵۱۷/۷ <sup>a</sup>	۱/۰۲۵ <sup>c</sup>	۰/۸۹۱ <sup>a</sup>
۳۰٪ حجمی	۳۳/۶۲ <sup>a</sup>	۱۱/۶۴ <sup>a</sup>	۱/۱۱۲ <sup>a</sup>	۵۱۸/۸ <sup>a</sup>	۰/۹۵۸ <sup>c</sup>	۰/۸۸۲ <sup>a</sup>
۳۵٪ حجمی	۳۰/۴۴ <sup>a</sup>	۴/۳۷۷ <sup>d</sup>	۰/۳۹۸ <sup>d</sup>	۴۲۷ <sup>b</sup>	۰/۹۸ <sup>c</sup>	۰/۸۸۶ <sup>a</sup>

(ب)

تیمارها	محتوای کلروفیل	جذب $CO_2$ ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	هدایت روزنه‌ای ( $m.s^{-1}$ )	$CO_2$ درون سلولی ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	تعرق ( $mmol m^{-2} s^{-1}$ )	عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی
متانول						
شاهد	۲۲/۹۴ <sup>c</sup>	۸/۲۴ <sup>d</sup>	۰/۶۰ <sup>c</sup>	۵۸۹/۲ <sup>d</sup>	۱/۷۰۵ <sup>a</sup>	۰/۸۰۰ <sup>b</sup>
۲۰٪ حجمی	۲۲/۷۷ <sup>c</sup>	۱۰/۲۱ <sup>cd</sup>	۰/۷۴۱ <sup>bc</sup>	۶۲۱/۶ <sup>c</sup>	۱/۳۳۳ <sup>b</sup>	۰/۹۲۱ <sup>a</sup>
۲۵٪ حجمی	۲۸/۹۵ <sup>c</sup>	۱۴/۳۲ <sup>b</sup>	۰/۸۰۶ <sup>ab</sup>	۶۴۶/۴ <sup>b</sup>	۱/۱۴۵ <sup>bc</sup>	۰/۹۳۲ <sup>a</sup>
۳۰٪ حجمی	۳۳/۹۳ <sup>a</sup>	۲۱/۴۰ <sup>a</sup>	۰/۹۳۸ <sup>a</sup>	۶۹۱/۹ <sup>a</sup>	۰/۹۲۱ <sup>c</sup>	۰/۹۳۹ <sup>a</sup>
۳۵٪ حجمی	۳۰/۵۴ <sup>ab</sup>	۱۲/۱۳ <sup>bc</sup>	۰/۶۴۳ <sup>c</sup>	۶۵۸/۹ <sup>b</sup>	۰/۸۵۳ <sup>c</sup>	۰/۹۳۴ <sup>a</sup>

(ج)

تیمارها	محتوای کلروفیل	جذب $CO_2$ ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	هدایت روزنه‌ای ( $m.s^{-1}$ )	$CO_2$ درون سلولی ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	تعرق ( $mmol m^{-2} s^{-1}$ )	عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی
متانول						
شاهد	۲۵/۴۰ <sup>e</sup>	۹/۰۷ <sup>e</sup>	۰/۷۶۱ <sup>d</sup>	۵۶۰/۳ <sup>c</sup>	۱/۳۵۲ <sup>a</sup>	۰/۷۹۶ <sup>b</sup>
۲۰٪ حجمی	۲۸/۷۷ <sup>d</sup>	۱۲/۵۵ <sup>d</sup>	۰/۹۵۰ <sup>c</sup>	۵۹۲/۶ <sup>b</sup>	۰/۹۹۳ <sup>b</sup>	۰/۹۳۷ <sup>a</sup>
۲۵٪ حجمی	۳۲/۹۸ <sup>c</sup>	۱۷/۰۴ <sup>b</sup>	۱/۰۶۷ <sup>b</sup>	۵۹۲/۱ <sup>b</sup>	۰/۹۱۸ <sup>b</sup>	۰/۹۵۱ <sup>a</sup>
۳۰٪ حجمی	۴۴/۱۰ <sup>a</sup>	۲۴/۶۷ <sup>a</sup>	۱/۲۱۷ <sup>a</sup>	۶۲۰/۷ <sup>a</sup>	۰/۷۴۰ <sup>c</sup>	۰/۹۷۸ <sup>a</sup>
۳۵٪ حجمی	۳۶/۶۵ <sup>b</sup>	۱۴/۵۹ <sup>c</sup>	۰/۸۰۳ <sup>d</sup>	۵۷۳ <sup>c</sup>	۰/۶۷۰ <sup>c</sup>	۰/۹۴۲ <sup>a</sup>

### هدایت روزنه‌ای

در بررسی روی رقم‌های گندم گزارش شده است که تنش خشکی با بستن روزنه‌ها به منظور کاهش هدر رفت آب به کاهش هدایت روزنه‌ای منجر می‌شود و

نیز از طریق تأثیر بر مکانیسم‌های درونی برگ از انتشار  $CO_2$  به فضای بین سلولی جلوگیری می‌کند (Ahmadi and Siosemardeh, 2005) و Fischer. Maurer (۱۹۹۸) مجموعه مکانیسم‌های درونی برگ

### غلظت CO<sub>2</sub> درون برگ

در مطالعه‌ای که روی لوبیا انجام شد، مشاهده شده است که غلظت CO<sub>2</sub> درون سلولی در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد که علت آن بسته شدن روزنه‌های برگ و جلوگیری از ورود CO<sub>2</sub> به درون برگ است (Zlatev and Yordanov, 2004). علاوه بر این، پژوهشگران ممانعت از انجام برخی فرآیندهای متابولیک از جمله جلوگیری از سنتز ATP و فعالیت آنزیم روپیسکو را به عنوان یکی از علل اصلی کاهش میزان جذب CO<sub>2</sub> در شرایط تنش خشکی مطرح نموده‌اند (Zlatev and Yordanov, 2004). در پژوهش حاضر نیز تنش خشکی به کاهش CO<sub>2</sub> درون سلولی نسبت به شرایط بدون تنش منجر شد. محلول پاشی متانول باعث افزایش غلظت CO<sub>2</sub> می‌شود که می‌تواند میزان تثبیت CO<sub>2</sub> در گیاه را افزایش دهد (Zbiec *et al.*, 2003). متانول در مقایسه با CO<sub>2</sub> مولکول نسبتاً کوچکتری است که به راحتی توسط گیاهان جذب شده و استفاده می‌شود (Gout *et al.*, 2000؛ Downie *et al.*, 2004). آنزیم روپیسکو نه تنها ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات را کربوکسیله می‌کند، بلکه توانایی اکسید آن را نیز دارد. اکسیداسیون به انجام تنفس نوری در گیاه منجر می‌شود (Makhdum *et al.*, 2002). متانول با متابولیزه شدن سریع به دی اکسید کربن (Gout *et al.*, 2000) و با افزایش CO<sub>2</sub> روند کربوکسیلاسیون در گیاه را افزایش و اکسیژناسیون را کاهش می‌دهد (Faver and Gerik, 1996). بررسی‌ها نشان داده‌اند که جلوگیری از آزاد سازی O<sub>2</sub> که وابسته به CO<sub>2</sub> است و جلوگیری از تثبیت CO<sub>2</sub> در شرایط تنش خشکی با افزایش غلظت CO<sub>2</sub> محیط بهبود

که به تثبیت CO<sub>2</sub> می‌انجامد را هدایت مزوفیلی نامیده می‌شود. کاهش هدایت روزنه‌ای و هدایت مزوفیلی از عوامل مؤثر در نقصان فتوسنتز تحت تنش خشکی هستند (Ahmadi and Siosemardeh, 2005). در بررسی روی رقم‌های مقاوم گندم مشاهده شد که مقاومت بیشتر به خشکی با مقادیر بالاتر هدایت روزنه‌ای و تا حدی هدایت مزوفیلی مرتبط است (Ahmadi and Siosemardeh, 2005). در این پژوهش نیز در هر سه مرحله محلول پاشی هدایت روزنه‌ای در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش کاهش داشت. در مطالعه‌ای که روی پنبه در مناطق خشک پاکستان انجام شد، محلول پاشی متانول به افزایش هدایت روزنه‌ای در گیاهان تیمار شده با متانول نسبت به شاهد منجر شد که علت آن کاهش تعرق و پایین آمدن درجه حرارت برگ بیان شد (Makhdum *et al.*, 2002). محلول پاشی متانول باعث افزایش پتانسیل تورگر در گیاهان C3، به علت دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ، شده که به افزایش راندمان مصرف آب و کاهش درجه حرارت برگ در این گیاهان منجر می‌شود (Nonomura and Benson, 1992). تنظیم روزنه‌ای (کاهش هدایت روزنه‌ای در پاسخ به تنش خشکی) برای حفظ بافت از خسارت پساییدگی (هدر رفت آب) از اهمیت بالایی برخوردار است، به ویژه آن که این نوع پاسخ در مقایسه با سایر پاسخ‌های بلند مدت (از جمله کاهش سطح برگ) سریع‌تر بوده و در ضمن قابل برگشت است (Ahmadi and Baker, 1998). در پژوهش حاضر، متانول با افزایش هدایت روزنه‌ای در بهبود تحمل به تنش خشکی نقش مهمی ایفا می‌کند.

می‌یابد که این امر نشان‌دهنده نقش کلیدی روزنه‌ها در کاهش تثبیت  $\text{CO}_2$  در شرایط تنش خشکی است (Amede and Schubert, Lu and Zhang, 1998) (2003). به نظر می‌رسد که متانول با افزایش میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی و تثبیت  $\text{CO}_2$  در بهبود تحمل به تنش خشکی نقش دارد.

### تعرق

کاهش میزان تعرق در شرایط تنش خشکی می‌تواند به عنوان مکانیسمی برای حفظ آب برگ و جلوگیری از هدر رفتن آن طی تعرق مطرح باشد (Kimbal *et al.*, 2002). در این پژوهش نیز تنش خشکی به کاهش تعرق نسبت به شرایط بدون تنش خشکی منجر شد. تحت شرایط تنش خشکی گیاه روزنه‌های خود را می‌بندد، در نتیجه میزان  $\text{CO}_2$  درون سلولی کاهش می‌یابد که این به کاهش میزان فشار آماس در اثر کاهش فتوسنتز و سوخت‌وساز در برگ منجر می‌شود (Vazan, 2002). از طرفی گیاهانی که از مکانیسم‌های کارآمدتری برای کاهش تبخیر و تعرق برخوردار هستند، قادر به تحمل بهتر شرایط تنش خشکی خواهند بود و با حفظ بیشتر آب درون برگ، امکان رشد و انجام فرآیندهای سلولی را بهتر فراهم می‌کنند (Jaleel *et al.*, 2008). در بررسی روی گوجه‌فرنگی گزارش شده است که متانول پس از محلول‌پاشی متابولیزه شده و با افزایش میزان  $\text{CO}_2$  درون برگ باعث افزایش میزان آماس و قندسازی در برگ‌ها می‌شود (Row *et al.*, 1994). بنابراین، کاهش تعرق با مصرف متانول با افزایش  $\text{CO}_2$  درون سلولی و حفظ بیشتر آب درون برگ در ارتباط است، به طوری که گیاه برای تأمین

### عملکرد کوآنتوم فتوشیمیایی (Fv/Fm)

به منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیک گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی از تکنیکی به نام سنجش فلئوئورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. در واقع، میزان فلئوئورسانس کلروفیل تابعی از فعالیت فتوسنتزی برگ است که می‌تواند در تشخیص مدت تنش‌های محیطی استفاده شود (Lichtenthaler and Burkart, 1999). شیب کاهشی عملکرد کوآنتوم (FV/FM) شاخص مناسبی برای ارزیابی ممانعت نوری در گیاهانی است که در معرض تنش‌های محیطی نظیر خشکی و گرما همراه با میزان تشعشع زیاد قرار می‌گیرند (Paknejad *et al.*, 2007). کاهش نسبت Fv/Fm در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده کاهش کارایی فتوسیستم II است که به علت کاهش انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I تحت تأثیر تنش خشکی است (Lu and Zhang, 1998). نتایج حاصل از بررسی‌ها گویای این مطلب است که کمپلکس آزاد کننده اکسیژن فتوسیستم II و مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته، تخریب می‌شوند. اثر تخریبی تنش خشکی بر پروتئین  $D_1$  که در

علت افزایش شدید انرژی برانگیختگی در گیرنده‌های کلروفیل است (Ali-Dib *et al.*, 1994). سرعت پذیرنده‌های الکترونی در فتوسیستم II در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد که باعث کاهش پتانسیل عملکرد کوآنتوم (FV/FM) می‌شود (Anonymous *et al.*, 1993). در این پژوهش مشاهده شد که با مصرف متانول عملکرد کوآنتوم افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده تأثیر متانول در مقاومت گیاه به تنش خشکی است. در مطالعه‌ای با افزایش مقدار متانول مصرفی عملکرد کوآنتومی (FV/FM) افزایش یافته است که نشان‌دهنده افزایش حفاظت نوری گیاه توسط متانول است (Nonomura and Benson, 1992).

#### سپاسگزاری

از مسؤولان محترم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت در اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

ساختمان فتوسیستم II قرار دارد، نیز گزارش شده است (Zlatev and Yordanov, 2004). در بررسی که روی ذرت انجام شده است، مشاهده شد که مقدار Fv/Fm در شرایط افزایش سطوح تنش خشکی کم‌ترین مقدار را نسبت به شرایط بدون تنش دارد که نشان‌دهنده تخریب مراکز واکنش فتوسیستم II در شرایط تنش خشکی است (Paknejad *et al.*, 2007). مقدار Fv/Fm نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II است (Paknejad *et al.*, 2007) که با عملکرد کوآنتوم فتوستتز خالص همبستگی بالایی دارد (Anonymous, 1993). بنابراین، کاهش میزان Fv/Fm نشانه کاهش میزان حفاظت نوری و نیز علتی است بر اینکه تنش خشکی بر کارآیی فتوستتز اثر معنی‌داری گذاشته است. کاهش کارآیی مصرف فوتون توسط فتوسیستم II میزان بازدارندگی نوری را تحت شرایط تنش مشخص می‌کند (Ali-Dib *et al.*, 1994) همچنین، مشخص شده است که کاهش کارآیی فتوسیستم II عمدتاً به

#### منابع

- Ahmadi, A. and Siosemardeh, A. (2005) Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance and non-stomatal limitations. *Journal of Iranian Agriculture Science* 5: 807-811 (in Persian).
- Ahmadi, A. and Baker, D. A. (1998) Stomatal and non stomatal photosynthesis limitation factors on wheat under drought condition. *Journal of Iranian Agriculture Science* 31: 813-825 (in Persian).
- Ali-Dib, T., Monneveux, P. H., Acevedo, J. and Nachil, M. M. (1994). Evaluation of praline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var. durum). *Euphytica* 79(1-2): 65-73.
- Anonymous (1993) An introduction to fluorescence measurements with the plant efficiency analyzer. *Scientific Research and Essays* 6: 5351-5357.
- Boyer, J. S., Armand, P. A. and Sharp, R. E. (1987) Light stress and leaf water relations. In: *Photoinhibition* (Eds. Kyle, D. J., Osmoud, C. B. and Arntzen, C. J.) 111-122. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, P., Coleman, J., Parry, M. and Haslam, R. (2004) Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Phytochemistry* 65: 2305-2316.

- Fall, R. and Benson, A. A. (1996) Leaf methanol, the simplest natural product from plants. *Trends in Plant Science* 1: 296-301.
- Faver, K. L. and Gerik, T. J. (1996) Foliar-applied methanol effects on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) gas exchange and growth. *Field Crops Research* 47: 227-234.
- Fischer, R. A. and Maurer, R. (1998) Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research* 29: 897-912.
- Flexas, J. and Medrano, H. (2008) Drought-inhibition of photosynthesis in C3- plants: stomatal and nonstomatal limitation revisited. *Annals of Botany* 183: 183-189.
- Galball, E. and Kristine, W. (2002) The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *Journal of Atmospheric Chemistry* 43: 195-229.
- Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A. R., Benson, A. and Douce, R. (2000) Metabolism of methanol in plant cells. *Plant Physiology* 123: 287-296.
- Hale, B., Herms, D., Hansen, R., Clausen, T., and Arnold, D. (2005) Effect of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides and rapid induced resistance of poplar to two *Lymantriid* defoliators. *Chemical Ecology* 31: 2601-2620.
- Haston, A. D. and Roje, S. (2001) One carbon metabolism in higher plants. *Annual Review of Plant Biology* 52: 119-138.
- Hemming, D. J. B., Criddle, R. C. and Hansen, L. D. (1995) Effects of methanol on plant respiration. *Journal of Plant Physiology* 146: 193-198.
- Jaleel, C. A., Gopi, R. and Panneerselvam, R. (2008) Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. *Comptes Rendus Biologies* 331: 272-277.
- Johnson, J. D., Tognetti, T. and Paris, P. (2002) Water relations and gas exchange in poplar and willow under water stress and elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Physiologia Plantarum* 115: 93-100.
- Khafagi, O. M. A. and El-Lawendy, W. I. (1997) Effect of different irrigation intervals on sugar beet growth, plant water relations and photosynthetic pigments. *Annals of Agricultural Science Moshtohor* 35: 305-319.
- Kimbal, B. A., Kobayashi, K. and Bindi, M. (2002) Responses of agricultural crops to free air CO<sub>2</sub> enrichment. *Advance Agronomy* 77: 293-368.
- Lichtenthaler, H. K and Burkart, S. (1999) Photosynthesis and high light stress. *Bulgharestan Journal of Plant Physiology* 25: 3-16.
- Lu, Q. and Zhang, J. (1998) Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. *Journal of Plant Physiology* 149: 164-178.
- Lu, Q., Lu, C., Zhang, J. and Kuang, T. (2002) Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. *Journal of Plant Physiology* 159: 1173-1178.
- Makhdum, I. M., Nawaz, A. Shabab, M., Ahmad, F. and Illahi, F. (2002) Physiological response of Cotton to methanol foliar application. *Pakistan Journal of Research Science* 13: 37-43.
- Mohammadian, R., Rahimian, H., Moghaddam, M. and Sadeghian, S. Y. (2003) Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6: 1763-1769 (in Persian).
- Mudgett, M. E. and Clarke, S. (1993) Characterization of plant L-isoaspartyl methyltransferases that may be involved in seed survival. purification, characterization and sequence analysis of the wheat germ enzyme. *Biochemistry* 32: 1100-1111.
- Nadali, I., Paknejad, F., Moradi, F. and 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).
- Nonomura, A. M. and Benson, A. A. (1992) The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yields with methanol. National Academy Science 89: 9794-9798.
- Ober, E. (2001) The search for drought tolerance in sugar beet. British Sugar Beet Review 69: 40-43.
- Paknejad, F., Majidi Heravan, E., Noormohammadi, Q., Siadat, A. and Vazan, S. (2007) Effects of drought stress of on chlorophyll fluorescence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. Journal of Biological Sciences 7: 841-847.
- Ramadant, T. and Omran, Y. (2005) The effects of foliar application of methanol on productivity and fruit quality of grapevine cv. flame seedlees. Vitis Journal 44: 11-16.
- Ranalli, P., Di Candilo, M. and Bagatta, M. (1997) Drought tolerance screening for potato improvement. Plant Breeding 116: 290-292.
- Rowe, R. N., Farr, D. J. and Richards, B. A. J. (1994) Effects of foliar and root applications of methanol or ethanol on the growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 22: 335-337.
- Amede, T. and Schubert, S. (2003) Mechanisms of drought resistance in grain II: stomatal regulation and root growth. SINET: Ethiopian Journal of Science 26(2): 137-144.
- Vazan, S. (2002) Effects of chlorophyll parameters and photosynthesis efficiency in difference beet. PhD thesis, Islamic Azad University, Tehran Branch, Tehran, Iran (in Persian).
- Wilson, J. M. and Greaves, J. A. (1993) Development of water stress in crop plants. Adaptation of food crops to temperature and water stress. Vegetable Research and Development Center 44: 389-398.
- Zbiec, I., Karczmarczyk, S. and Koszanski, Z. (1999) Influence of methanol on some cultivated plants. Journal of Poland Agricultural 73: 217-220.
- Zbiec, I., Karczmarczyk, S. and Podsiadlo, C. (2003) Response of some cultivated plants to methanol as Compared to supplemental irrigation. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 6: 1-7.
- Zlatev, Z. S. and Yordanov, I. T. (2004) Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulgharestan Journal of Plant Physiology 30: 3-18.
- Keles, Y. and Oncel, I. (2004) Growth and solute composition on two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. Russian Journal of Plant Physiology 51: 203-208.



## Effects of foliar application of methanol on photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress

Saeed Reza Hossinzadeh <sup>1</sup>, Azam Salimi <sup>1</sup>, Ali Ganjeali <sup>2\*</sup> and Raheleh Ahmadpour <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>3</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

### Abstract

To evaluate the effects of foliar application of methanol on photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of chickpea under drought stress, a factorial experiment was conducted based on completely randomized design with three replications in 2011 at the Research Center for Sciences of Ferdowsi University of Mashhad. In this experiments, different levels of methanol including, 0 (control), 20, 25, 30 and 35 volumetric percentage (v/v) were used as foliar applications at three times during growth season of chickpea, with 10 days intervals. Moisture regimes were at two levels, 25 and 100 percent of field capacity. Results showed that there was significant difference ( $P \leq 0.01$ ) between methanol concentrations after each spraying, regarding to chlorophyll content,  $\text{CO}_2$  assimilation, stomatal conductance, transpiration,  $\text{CO}_2$  concentration in stomatal chamber and Fv/Fm. Spraying with 30% volume level than the other treatments were effective on the physiological components, while was observed significant increase in chlorophyll content, stomatal conductance and assimilation  $\text{CO}_2$  compared to the control. Results indicated that interactions between drought and methanol after each spraying had significant differences ( $P \leq 0.05$ ) in traits such as content, assimilation  $\text{CO}_2$ , stomatal conductance, transpiration,  $\text{CO}_2$  concentration in stomatal chamber, Fv/Fm. It could be concluded that spraying methanol improve photosynthetic characteristics, (Fv/Fm) and chlorophyll content in drought conditions.

**Key words:** Drought stress, Fv/Fm, Methanol, Photosynthetic characteristics

---

\* Corresponding Author: ganjeali@um.ac.ir