

## بررسی اثر متانول بر میزان رنگدانه های فتوستنزی، محتوای آب نسبی و پایداری غشا سلولی تحت تنش خشکی در نخود (*Cicer arietinum* L.)

سعید رضا حسین زاده<sup>۱\*</sup>، اعظم سلیمی<sup>۲</sup>، علی گنجعلی<sup>۳</sup> و راهله احمدپور<sup>۴</sup>

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران، تهران، ایران.

(۲) استادیار دانشگاه تربیت معلم تهران، دانشکده علوم، تهران، ایران.

(۳) استادیار دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، مشهد، ایران.

(۴) دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات: Hossinzadeh\_tmu@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۴

### چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی متانول بر میزان کلروفیل a، b، کارتنوئید، کلروفیل کل، محتوای آب نسبی و پایداری غشا سلول های برگی نخود (رقم کرج) در شرایط تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شهر یور سال ۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به اجراء درآمد. عامل محلول پاشی متانول با ۵ سطح، شاهد (بدون محلول پاشی)، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی بود که به هر کدام از سطوح ۲ گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. محلول پاشی ۳ بار طی فصل رشد گیاه و با فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. عامل خشکی نیز شامل تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد. نتایج نشان داد بین سطوح مختلف متانول اختلاف معنی داری از نظر میزان کلروفیل a، b، کارتنوئید، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a به b، محتوای آب نسبی، ضریب پایداری غشا و راندمان مصرف آب وجود داشت ( $P < 0.01$ ). محلول پاشی با سطح ۳۰ درصد حجمی بیش از سایر تیمارها موثر بود بطوریکه موجب افزایش معنی داری در میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و محتوای آب نسبی نسبت به دیگر سطوح شد. اثرات متقابل تنش خشکی و متانول تاثیر معنی داری بر میزان کارتنوئید و محتوای آب نسبی نداشت اما بر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و ضریب پایداری غشا معنی دار بود ( $P < 0.05$ ).

واژه های کلیدی: نخود، محلول پاشی متانول، رنگیزه های فتوستنزی.

## مقدمه

تنش خشکی یکی از مشکلات عمده تولید گیاهان زراعی در ایران و جهان به شمار می رود و تهدید جدی برای تولید موفقیت آمیز محصولات زراعی در سراسر جهان است (Ober, 2001). در حدود یک سوم از زمینهای قابل کشت دنیا به طور قابل توجهی با کمبود آب مواجه هستند (Clover and *et al.*, 1998). گزارش شده است که تنش خشکی بعنوان عامل اصلی کاهش عملکرد در چغندر قند است (Parsa and Bagheri, 2008). با اینکه نخود گیاهی است مقاوم به خشکی اما جهت حصول به عملکرد بالا اتخاذ راهکارهایی که بتواند اثر تنش خشکی را کاهش دهد بسیار مورد توجه محققان بوده است (Hsiao, 2000). گیاهان می توانند متانول محلول پاشی شده بر روی برگ ها را به راحتی جذب کرده و آن را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Gout and *et al.*, 2000, Downie and *et al.*, 2004). متانول در گیاهان عالی به آسانی با اتصال به گروه های متیل می تواند تبدیل به ملکول هایی مثل سرین، متیونین و فسفاتیدیل کولین شود (Row and *et al.*, 1994). کاربرد خارجی متانول به طور مستقیم با فرآیند های متابولیکی رشد و نمو گیاه در ارتباط است و همچنین با فرآیند های مرتبط با مکانیسم های دفاعی از قبیل فعال شدن ژن های درگیر در بیوسنتز اسید جاسمونیک نیز مرتبط است (Gout and *et al.*, 2000). مهمترین فایده متانول جلوگیری و کاهش اثر تنش های القا شده به گیاهان زراعی در اثر انجام تنفس نوری در آن ها می باشد (Nonomura and *et al.*, 1992). کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده و حفظ غلظت کلروفیل تحت این شرایط به ثبات فتوسنتز کمک می کند (Castillo and *et al.*, 1994). محلول پاشی متانول باعث افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئید در برگ چغندر قند در شرایط تنش خشکی شد (Khafagi and *et al.*, 1997). در تحقیقی دیگر افزایش کلروفیل بعد از محلول پاشی با متانول در برگ گندم، یولاف و مو مشاهده شد (Ramadant and *et al.*, 2005). یکی از مهمترین تغییرات ناشی از تنش خشکی کاهش محتوای آب نسبی برگ (RWC) می باشد. این صفت می تواند توانمندی گیاه را در تحمل به تنش خشکی نشان دهد. کاهش محتوای آب نسبی و بسته شدن روزنه ها اولین تاثیر تنش خشکی بوده که از طریق اختلال در ساخت مواد فتوسنتزی موجب کاهش میزان عملکرد می شود (Anonymous, 1993). گزارش هایی وجود دارد که نشان می دهد محلول پاشی متانول سبب کاهش نیاز آبی گیاهان در شرایط گرم می شود. متابولیسم متانول منجر به افزایش قند سازی در برگ ها می شود که این سبب افزایش فشار آماس و افزایش سرعت آسیمیلاسیون و رشد در گیاهان تیمار شده با آن می شود. افزایش محتوای آب نسبی و تورژسانس در بادام زمینی نیز گزارش شده است (Safarzade Vishkaei, 2007).

تنش های محیطی با تغییر ساختمان غشا از نظر کمیت و کیفیت اسید های چرب و پروتئین ها می تواند رشد گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. خشکی از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو، یکپارچگی غشا سلول را تحت تاثیر قرار می دهد (Heravan and *et al.*, 1994). کارائی مصرف آب می تواند به عنوان شاخص مناسب جهت ارزیابی میزان تحمل گیاهان به تنش خشکی، مورد استفاده قرار گیرد. گیاهان متحمل به تنش خشکی، عملکرد روزنه ای خود را کنترل می کنند تا بتوانند عمل تثبیت کربن را انجام دهند. بنابراین کارائی مصرف آب در این گیاهان افزایش می یابد (Yordanov and *et al.*, 2003). با توجه به خواص ضد تنشی متانول هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر متانول بر میزان کلروفیل، کارتنوئید، محتوای آب نسبی و پایداری غشا سلول های برگ می باشد.

## مواد و روش ها

به منظور بررسی اثر تنش خشکی و محلول پاشی متانول بر روی نخود (رقم کرج) آزمایشی در شهریور ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اجراء گردید. آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در آزمایش شامل تیمار محلول پاشی متانول در ۵ سطح شاهد (بدون محلول پاشی) و ۲۰ و ۲۵ و ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی متانول که به هر کدام از محلول ها دو گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. عامل خشکی نیز شامل بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد. این آزمایش در گلدان هایی با محتوی ۳ کیلوگرم خاک که دارای ۱۸ سانتیمتر قطر و ارتفاع ۱۵ سانتیمتر انجام شد. محلول پاشی ۳ بار طی فصل رشد گیاه و با فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. محلول پاشی گیاهچه ها تا زمان جاری شدن قطره های محلول روی برگ ادامه یافت. اندازه گیری صفات یک روز بعد از محلول پاشی انجام گرفت. برای سنجش میزان کلروفیل و کارتنوئید از روش لیچنتالر (۱۹۸۷) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم برگ با ۴ میلی لیتر استن ۸۰٪ در هاون چوبی سائیده شد و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و سپس جذب محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل و کارتنوئید توسط اسپکتروفتومتر مدل ۲۱۰۰ در طول موج های ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. جهت صفر کردن دستگاه از استن ۸۰٪ استفاده شد. میزان کل کلروفیل، کلروفیل a، b و کارتنوئید از طریق معادله های زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chl}_a = 12/21(A664) - 2/79(A647) \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\text{Chl}_b = 21/21(A647) - 5/1(A664) \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\text{Carotenoide} = (1000 A470 - 1/8\text{Chl}_a - 85/02\text{Chl}_b)/198 \quad \text{معادله (۳)}$$

$$\text{Chl}_T = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b \quad \text{معادله (۴)}$$

به منظور تعیین محتوای آب نسبی موجود در برگ، مقدار معینی از برگ دوم گیاهان برداشت شده از هر تیمار، به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر غوطه ور شدند. سپس برگ ها از آب خارج و سطح آن ها با دستمال کاغذی خشک شد و مجدداً وزن آنها اندازه گیری گردید. در مرحله بعد، برگ ها در آون ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن آن ها نیز محاسبه شد. محتوای آب نسبی با استفاده از معادله زیر بدست آمد:  $RWC = (FW-DW/TW-DW) \times 100$  در این معادله، RWC محتوای آب نسبی، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است (Bian and Jiang, 2008).

برای تعیین شاخص پایداری غشای سلولی، ۰/۱ گرم از برگ دوم گیاهان برداشت شده از هر تیمار، توزین و داخل دو گروه لوله آزمایش، حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر گذاشته شدند. یک گروه از لوله ها، به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۴۰ درجه سانتی گراد و گروه دیگر لوله ها، به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از کاهش دمای لوله ها تا حد دمای محیط، هدایت الکتریکی نمونه ها به وسیله دستگاه EC meter (مدل Jenway) اندازه گیری شد و سپس شاخص پایداری غشا از معادله زیر بدست آمد (Sairam and *et al.*, 2001):

(هدایت الکتریکی آب در دمای ۱۰۰ °C / هدایت الکتریکی آب در دمای ۴۰ °C) - ۱ = شاخص پایداری غشا

اندازه گیری میزان تثبیت CO<sub>2</sub> و تعرق، پس از محلول پاشی سوم به وسیله دستگاه اندازه گیری میزان فتوسنتز مدل ADC LCA4+ انجام شد. راندمان مصرف آب، از طریق نسبت میزان تثبیت CO<sub>2</sub> به میزان تعرق محاسبه شد (Ahmed, 2002). داده ها پس از جمع آوری توسط نرم افزار Mstat-c تجزیه شده و مقایسه میانگین به روش Duncan انجام گرفت.

## نتایج و بحث

تأثیر محلول پاشی متانول بر رنگدانه های فتوسنتزی، محتوای آب نسبی، پایداری غشا سلولی و راندمان مصرف آب

نتایج تجزیه واریانس جدول ۱ نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متانول بر میزان کلروفیل a، b، محتوای کلروفیل کل معنی دار بود ( $p < 0.01$ ). نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود، که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی متانول اختلاف معنی داری داشت و کمترین میزان آن متعلق به سطح شاهد (بدون محلول پاشی متانول) بود (جدول ۲). با کاهش آب قابل استفاده برای گیاهان و به تبع آن بروز تنش خشکی از میزان کلروفیل a و b در بافت سبز برگ کاسته شد (Fangmeir and *et al.*, 2001). Nonomura و همکاران (1992) گزارش کردند محلول پاشی متانول سبب افزایش پتانسیل تورگر شده و آن هم به علت دو برابر شدن میزان قند تولید

شده در برگ است که منجر به افزایش میزان آب قابل دسترس برای گیاه می شود. از طرفی ثابت شده است که در شرایط تنش خشکی کاهش جذب منیزیم و احتمالاً آهن رخ می دهد که میزان سنتز کلروفیل را کاهش می دهد (Keles and Onsel., 2004). احتمالاً متانول با افزایش طول و سطح ریشه در جذب عناصر مثل منیزیم و آهن از خاک موثر بوده است.

Paknejad و همکاران (۲۰۰۷) افزایش عملکرد ریشه در سطح ۳۰ درصد متانول را گزارش کردند. در مطالعاتی که بر روی گوجه فرنگی و فلفل انجام شد، محلول پاشی متانول به همراه گلیسین مقدار کلروفیل برگ ها را افزایش داد (Row and *et al.*, 1994). مطالعات Rajala و همکاران (1998) نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول پاشی متانول نشان داد. گزارش های Fangmeir و همکاران (2001)، نشان داد که کاهش میزان کلروفیل *a* در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید رادیکال های اکسیژن می باشد که این رادیکال های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه ها می شود. احتمالاً متانول از طریق جذب آهن که به عنوان گروه پروستیتیک هموپروتئین هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است می تواند در نابودی رادیکال های آزاد اکسیژن در گیاه نقش داشته باشد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متانول بر میزان کارتنوئید معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان کارتنوئید در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود، که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی متانول اختلاف معنی داری نداشت و کمترین میزان آن متعلق به سطح شاهد (بدون محلول پاشی متانول) بود (جدول ۲). کلروفیل ها نسبت به اکسیداسیون و بازدارندگی نوری حساس بوده در حالی که نقش کارتنوئید ها به عنوان آنتی اکسیدان و حفاظت کننده از کلروفیل ها مطرح است (Ramandant and *et al.*, 2005). مشخص شده که کارتنوئید ها نسبت به کلروفیل ها پایدارترند (Timan and *et al.*, 1980). مقدار کلروفیل هیچگاه بالاتر از آن مقداری که توسط کارتنوئید محافظت می شود افزایش پیدا نخواهد کرد (Robertson and *et al.*, 1996). بنابراین احتمالاً افزایش میزان کارتنوئید در سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد حجمی متانول با افزایش میزان کلروفیل در این سطوح مرتبط است. مطالعاتی که بر روی انگور و لوبیا انجام شد، محلول پاشی متانول میزان کلروفیل و کارتنوئید را در برگها افزایش داد (Ramandant and *et al.*, 2005). نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متانول بر نسبت کلروفیل *a* به *b* معنی دار بود ( $P < 0.01$ ). بیشترین میزان این نسبت مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود و کمترین میزان آن مربوط به سطح شاهد (بدون محلول پاشی) بود که با دیگر سطوح اختلاف معنی داری نداشت. افزایش این نسبت را می توان با افزایش میزان کلروفیل *a* در سطوح ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی متانول (طبق موارد فوق) مرتبط دانست. بین سطوح مختلف متانول نیز در محتوای آب نسبی اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.01$ ). با توجه به جدول ۲ سطوح مختلف متانول همگی در یک گروه آماری و شاهد (بدون محلول پاشی متانول) نیز

در گروه دیگر قرار گرفت. بنابراین تمام سطوح براین صفت اثر مثبت داشتند، با این حال بیشترین میزان محتوای آب نسبی متعلق به سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد حجمی متانول بود که به نسبت سطح شاهد افزایش ۱۵ درصدی داشت. متانول پس از محلول پاشی متابولیزه شده و با افزایش میزان دی اکسید کربن درون برگ سبب افزایش میزان آماس و قند سازی در برگ ها می شود (Row and *et al.*, 1994). طبق گزارش های Nonomura (1991) محلول پاشی متانول در گیاهانی که در معرض تنش خشکی هستند سبب افزایش پتانسیل آب و محتوای آب نسبی می شود. این محقق علت افزایش محتوای آب نسبی را در گیاهان تیمار شده با متانول دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ گیاهان دانست.

Archive of SID

جدول ۱: تجزیه واریانس پارامترهای فیزیولوژیکی

میانگین مربعات									
منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a/b	کارتنوئید	محتوای آب نسبی	پایداری غشا	کارایی استفاده از آب
متانول	۴	۳/۹۹۳ *	۰/۶۵۸ *	۷/۶۳۹ *	۰/۵۱۹ *	۰/۲۰۵ **	۲۲۶/۷۸ *	۰/۰۲۹ *	۵۷۲/۴۰ *
تنش	۱	۳/۲۴۹ *	۰/۱۳۹ <sup>ns</sup>	۴/۵۸۹ *	۰/۰۲۳ <sup>ns</sup>	۰/۶۸۷**	۲۴۰/۸۳ *	۰/۰۵۵ *	۸۳۷/۶۲ *
متانول×تنش	۴	۰/۲۸۳ **	۰/۰۱۵ **	۰/۳۵۵ **	۰/۰۵۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۹۰ <sup>ns</sup>	۱/۹۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۳ **	۸۰/۰۱۴ *
خطای آزمایش	۲۰	۰/۰۷۰	۰/۰۳۵	۰/۰۹۱	۰/۰۵۴	۰/۰۷۹	۵/۵۶۷	۰/۰۰۲	۶/۷۸۹
ضریب تغییرات (%)	-	۲/۴۴	۶/۳۲	۲/۱۸	۶/۲۷	۶/۴۶	۳/۱۹	۷/۸۸	۱۳/۵۶

<sup>ns</sup>، \*، \*\* به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۲: اثرات ساده متانول بر پارامترهای فیزیولوژیکی

تیمارها	کلروفیل a (mg/gLFW)	کلروفیل b (mg/gLFW)	کلروفیل کل (mg/gLFW)	نسبت کلروفیل a/b	کارتنوئید (mg/gLFW)	محتوای آب نسبی (%)	پایداری غشا ( $\mu$ s)	کارایی استفاده از آب $\text{Kg mm}^{-1} \text{ha}^{-1}$
متانول								
شاهد	۹/۸۴ d	۲/۶۴۳ c	۱۲/۴۸ d	۳/۷۲۳ b	۳/۶۸۰ c	۰/۶۳۱ b	۰/۴۸۳ b	۱۰/۰۲ d
۲۰٪ حجمی	۱۰/۴۳ c	۲/۸۸۵ b	۱۳/۳۱ c	۳/۶۲۰ b	۴/۲۰۳ b	۰/۷۵۳ a	۰/۵۷۱ a	۱۶/۸۲ c
۲٪ حجمی	۱۱/۰۹ b	۲/۲۵۰ a	۱۴/۳۱ b	۳/۴۶۸ b	۴/۴۲۲ a	۰/۷۸۰ a	۰/۵۷۳ a	۲۰/۹۰ c
۳۰٪ حجمی	۱۲/۰۳ a	۲/۳۶۷ a	۱۵/۴۷ a	۳/۴۸۷ b	۴/۴۹۷ a	۰/۷۶۸ a	۰/۵۲۳ ab	۳۲/۱۳ a
۳٪ حجمی	۱۰/۹۲ b	۲/۶۷۲ c	۱۳/۵۳ c	۴/۱۹۰ a	۴/۳۲۵ ab	۰/۷۶۸ a	۰/۴۰۵ c	۲۵/۱۷ b

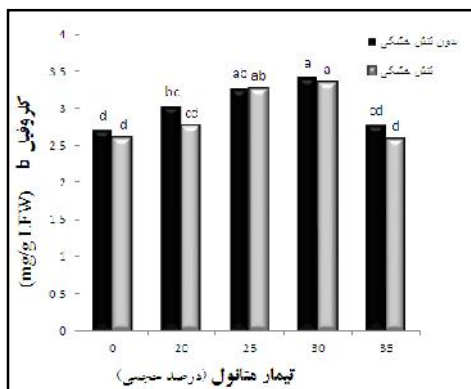


نتایج نشان داد اثر محلول پاشی متانول بر ضریب پایداری غشا سلول های برگ معنی دار بود ( $P < 0.01$ ). بیشترین میزان پایداری غشا مربوط به سطح ۲۵ درصدی متانول بود که با سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول اختلاف معنی داری نداشت و کمترین میزان آن نیز مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود. این کاهش را می توان به اثرات سمی متانول در غلظت های بالا نسبت داد. کاهش ضریب پایداری غشا در شرایط تنش خشکی در زیتون و *Medicago truncatula* گزارش شده است (Nunes and et al., 2008; Bayoumi and et al., 2008). نتایج نشان داد اثر محلول پاشی متانول بر راندمان مصرف آب معنی دار بود ( $p < 0.01$ ). بیشترین میزان راندمان مصرف آب مربوط به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود و کمترین آن مربوط به سطح شاهد بود. علت افزایش راندمان مصرف آب را می توان با افزایش میزان تثبیت  $CO_2$  از طریق محلول پاشی متانول مرتبط دانست. Makhdum و همکاران (2002) بیشترین میزان تثبیت  $CO_2$  را در سطح ۲۵ و ۳۰ درصد متانول گزارش کردند.

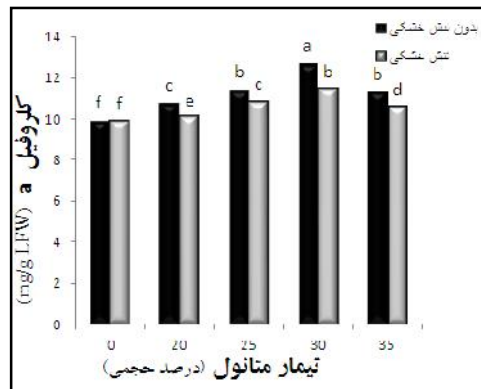
#### اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر رنگدانه های فتوسنتزی، پایداری غشا سلولی و راندمان مصرف آب

نتایج تجزیه واریانس جدول ۱ نشان داد که برهمکنش متانول و تنش خشکی تاثیر معنی داری بر میزان کارتنوئید و محتوای آب نسبی نداشت اما بر میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل در هر دو تیمار تنش خشکی و بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود و کمترین میزان آن نیز مربوط به سطح شاهد (بدون محلول پاشی متانول) در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی بود (اشکال ۱، ۲ و ۳). محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش افزایش یافت که علت این افزایش را میتوان به کوچک شدن سلول های برگ به علت کاهش سطح برگ و ضخیم شدن سلول ها گزارش کرد (Paknejad and et al., 2007). کاهش میزان کلروفیل a و b در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید رادیکال های اکسیژن می باشد که این رادیکال های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه ها می شود (Fangmeir and et al., 2007). از طرفی ثابت شده است که در شرایط تنش خشکی کاهش جذب منیزیم و احتمالاً آهن رخ می دهد که میزان سنتز کلروفیل را کاهش می دهد (Keles and Onsel., 2004). احتمالاً متانول از طریق جذب آهن که به عنوان گروه پروستتیک هموپروتئین هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است می تواند در نابودی رادیکال های آزاد اکسیژن در گیاه نقش داشته باشد. Ramandant و همکاران (2005) گزارش کردند که در برگ گندم، یولاف و مو مقدار کلروفیل بعد از محلول پاشی با متانول در شرایط تنش خشکی افزایش معنی داری یافته است. اثر متقابل تنش خشکی و متانول بر نسبت کلروفیل a به b معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان این نسبت متعلق به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون

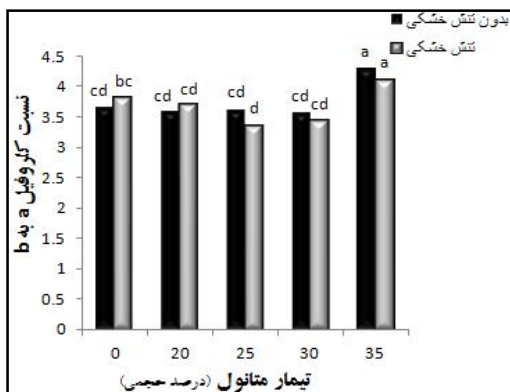
تنش بود و کمترین میزان متعلق به سطح شاهد (بدون محلول پاشی متانول) در تیمار بدون تنش خشکی بود (شکل ۴). افزایش نسبت کلروفیل a به b در شرایط تنش خشکی به واسطه تغییر در سیستم های فتوسنتزی در جهت نسبت کمتر فتوسیستم ۲ به فتوسیستم ۱ می باشد (Estill and *et al.*, 1991). برهمکنش متانول و تنش خشکی تاثیر معنی داری بر پایداری غشای سلول های برگ داشت ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان پایداری غشا در تیمار بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۲۵ درصدی متانول بود و در تیمار تنش خشکی بیشترین میزان مربوط به سطح ۲۰ درصد حجمی متانول بود که با دیگر سطوح به جز سطح ۳۵ درصدی متانول اختلاف معنی داری نداشت. کمترین میزان در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود (شکل ۵). تنش خشکی از طریق افزایش تولید مواد تخریب کننده غشا از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تخریب غشا سلولی گشته و در نتیجه ضریب پایداری غشا در شرایط تنش خشکی کاهش می یابد. گیاهان متحمل به تنش خشکی مکانیسم هایی برای مقابله با تخریب غشا دارند که یکی از این مکانیسم ها تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز است (Jinmiin and Hang., 2001). افزایش میزان پایداری غشا با محلول پاشی متانول اشاره به خواص ضد تنشی متانول دارد که احتمالا با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز باعث تجزیه مواد تخریب کننده غشا از جمله پراکسید هیدروژن می شود. کاهش ضریب پایداری غشا در شرایط تنش خشکی در گیاهان دیگر از جمله گندم و زیتون نیز گزارش شده است (Guerfel and *et al.*, 2008). برهمکنش متانول و تنش خشکی تاثیر معنی داری بر راندمان مصرف آب داشت ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان در سطح ۳۰ درصد حجمی در هر دو تیمار تنش و بدون تنش مشاهده شد که با دیگر سطوح اختلاف معنی داری داشت و کمترین میزان مربوط به سطح شاهد (بدون محلول پاشی متانول) در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی بود (شکل ۶). متانول بعد از محلول پاشی از طریق آنزیم متانول اکسیداز تبدیل به فرمالدهید و سپس تبدیل به فرمات (متانوئیک اسید) می شود. فرمات در مرحله بعد توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به دی اکسید کربن می شود و باعث افزایش  $CO_2$  درون سلولی در گیاه میشود (Nonomura and *et al.*, 1992). احتمالا متانول با افزایش تثبیت  $CO_2$  در گیاه باعث افزایش راندمان مصرف آب نسبت به سطح شاهد (بدون محلول پاشی متانول) شده است. Zebic و همکاران (1992) گزارش کردند محلول پاشی متانول باعث افزایش غلظت  $CO_2$  شده که می تواند میزان تثبیت  $CO_2$  را در گیاه بالا ببرد.



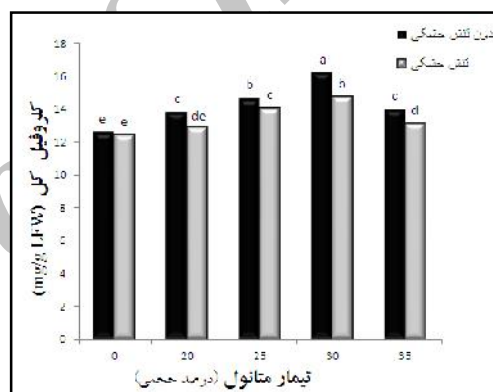
شکل ۲: اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل b



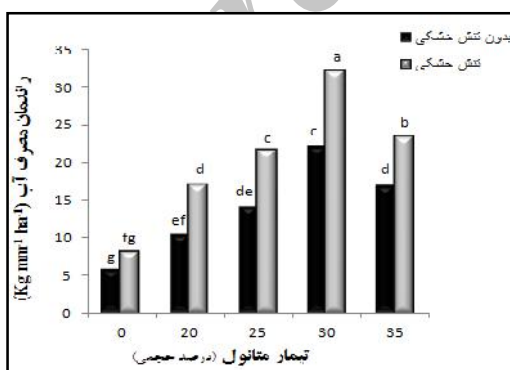
شکل ۱: اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل a



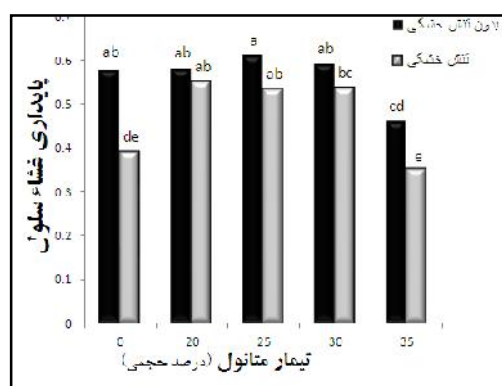
شکل ۴: اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر نسبت کلروفیل a به b



شکل ۳: اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل



شکل ۶: اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر راندمان مصرف آب



شکل ۵: اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان پایداری غشا سلول

## منابع

- **Anonymous, A. 1993.** An introduction to fluorescence measurements with the plant efficiency analyzer. Hansatech instruments Ltd., England.
- Boyer, J. S., Armand, P. A. & Sharp, R. E. 1987.** Light stress and leaf water relations. In: Kyle, D.J., C.B. Osmoud and C.J. Arntzen (eds), *Photoinhibition*, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp:111-122.
- Clover, G., Smith, H., and Jaggard, K. 1998.** The crop under stress. *British Sugar Beet Review* 66(3): 17-19.
- Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, and Nonomura, A. R. 2000.** Metabolism of methanol in plant cells. *Plant Physiology* 123: 287-296.
- Hsiao, T.C. 2000.** Leaf and root growth in relation to water status. *Horticultural Science* 35: 1051-1058.
- 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.
- Khafagi, O. M. A. & 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.
- Lichtenthaler, H. K. 1992.** The Kaustky effect: 60years of chlorophyll fluorescence induction kinetics. *food crops to temperature and water stress*, AVRDC, Shanhua, Taiwan, pp:389-398.
- Mohammadian, R., Rahimian, H., Moghaddam, M. & Sadeghian, S. Y. 2003.** Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(20), 1763-1769.
- Nonomura, A. M. 1997.** Method and composition for enhancing carbon fixation in plants. *Proc Natl Acad Sci, U.S.A.* 89, 9794-9798.
- Nonomura, A. M., and Benson, A. 1992.** The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 89: 9794-9798.
- Ober, E. 2001.** The search for drought tolerance in sugar beet. *British Sugar Beet Review*. 69(1): 40-43.

- Paknejad, F., Majidi heravan, E., Noor mohammadi, Q., Siyadat, A. & Vazan, S. 2007.** Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* , 5(4), 162-169.
- Parsa, M., and Bagheri, A. 2008.** Legumes. Mashhad University Jahad Press. (In Persian).
- Rajala, A., Karkkainen, J., Peltonen, J., and Peltonen-Sainio, P. 1998.** Foliar applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C3 crops. *Industrial Crop Production*.7: 129-137.
- Ramadant, T. & 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.
- Safarzade Vishkaei, M. 2007.** Effects of methanol on growth and yield of peanut. Ph. D. thesis. Sciences and Research unit, Islamic Azad University Tehran, Iran, Pp 232 (in Farsi).
- Zbiec, I. I., Karczmarczyk, S., Koszanski, Z. 1999.** Influence of methanol on some cultivated plants. Department of Plant Production and Irrigation. Agricultural University of Szczecin Poland. 73: 217-220.
- Zbiec, I., Karczmarczyk, S., Podsiadlo, C. 2003.** Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 6(1) :1-7.