

## بررسی نقش متانول در کاهش اثرات منفی تنش کم آبی از طریق سنجش شاخص‌های فتوسنتزی در گیاه عدس (*Lens culinaris Medik.*)

راهله احمدپور\*، سعیدرضا حسین زاده و نظام آرمند

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۴/۲۲)

### چکیده:

کمبود آب قابل دسترس، عامل اصلی محدودکننده رشد و تولید محصول در مناطق خشک می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که محلول پاشی برگ با متانول در گیاهان ۳ کرینه نقش موثری در تحمل به تنش کمبود آب در این گیاهان دارد. در این راستا به منظور بررسی اثر متانول بر ویژگی‌های فتوسنتزی، فلورسانس کلروفیل و محتوای کلروفیل گیاه عدس تحت تنش کم آبی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. عامل محلول پاشی متانول با ۵ سطح، شاهد (بدون محلول پاشی)، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی بود. محلول پاشی متانول ۳ بار در طول فصل رشد گیاه (گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی) و با فواصل ۱۰ روز انجام شد. عامل کم آبی نیز شامل تنش کم آبی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنش کم آبی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد. مقایسه میانگین برهم‌کنش متانول و تنش خشکی نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی، سطوح متانول در هر ۳ مرحله گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی منجر به افزایش معنی‌دار تمامی صفات مورد بررسی به جز تعلق نسبت به سطح شاهد شد. محلول پاشی متانول در هر ۳ مرحله منجر به کاهش معنی‌دار تعلق در تیمار بدون تنش خشکی در مقایسه با سطح شاهد شد. در مرحله گیاهچه‌ای در تیمار تنش خشکی ملایم و شدید، متانول تأثیر معنی‌داری بر صفات فتوسنتزی داشت، اما در مراحل گلدهی و غلاف‌دهی کاربرد متانول در شرایط تنش ملایم و شدید به جز برخی صفات نتوانست اثرات منفی ناشی از تنش آبی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: تنش کم آبی، محلول پاشی متانول، شاخص‌های فتوسنتزی، عدس.

### مقدمه:

مناطق خشک و نیمه خشک، عدس جز گیاهانی است که غالباً در اراضی حاشیه‌ای و در خاک‌های نه چندان حاصلخیز کشت می‌شود. در ایران عدس با سطح زیر کشت حدود ۲۶۰ هزار هکتار و با متوسط عملکردی برابر با ۳۶۵ کیلوگرم در هکتار، تولیدی معادل ۹۵ هزار تن در سال دارد (Erskine et al., 2009) که پس از نخود در مقام دوم اهمیت قرار دارد و به دلیل کشت مداوم ارقام کم محصول و حساسیت آنها به تنش‌های مختلف، دارای عملکرد بسیار پایین می‌باشد (Astarai and Foruzan ghohar, 2000). از

عدس (*Lens culinaris Medik*) از مهمترین حبوبات می‌باشد که در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود. این گیاه نقش مهمی در بهبود سلامت انسان دارد (Erskine et al., 2009). دانه‌های عدس، به عنوان یک منبع غذایی مهم برای انسان، سرشار از منابع پروتئینی، عناصر مغذی (پتاسیم، فسفر، آهن و روی)، ویتامین‌ها و همچنین اسیدهای آمینه لوسین و تریپتوفان است (Ahmadpour et al., 2015). در میان گیاهان زراعی

سپس اتمسفر می‌شود (Mudgett and clarke, 1993) و بخش دیگر آن تبدیل به فرم آلدئید و سپس به اسید فرمیک و در نهایت به  $\text{CO}_2$  تبدیل می‌شود. این  $\text{CO}_2$  تولید شده می‌تواند بر تثبیت  $\text{CO}_2$  در گیاهان اثر بگذارد (Galbal and Kristine, 2002; Hosseinzadeh *et al.*, 2012).

در تحقیقات انجام شده، کاربرد متانول به عنوان یک منبع کربن برای گیاهان زراعی رواج پیدا کرده است (Downie *et al.*, 2004)، زیرا گیاهان می‌توانند متانول محلول پاشی شده بر روی برگ‌ها را که کوچکتر از  $\text{CO}_2$  می‌باشد، به راحتی جذب کرده و آن را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Gout *et al.*, 2000). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد محلول پاشی متانول سبب کاهش نیاز آبی گیاهان در شرایط گرم می‌شود. متابولیسم متانول منجر به افزایش تولید قند در برگ‌ها می‌شود که این موضوع سبب افزایش فشار آماس و افزایش سرعت تثبیت  $\text{CO}_2$  و رشد در گیاهان تیمار شده با آن شده است (Rajala *et al.*, 1998; Vyshkayy *et al.*, 2008). کاربرد برگی متانول در شرایط تنش کم‌آبی منجر به افزایش برخی خصوصیات فیزیولوژیکی از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش میزان تعرق،  $\text{CO}_2$  درون سلولی و فتوسنتز خالص در گیاه کتان شد (Makhdum *et al.*, 2002).

سنجش فلورسانس کلروفیل به منظور ارزیابی فعالیت فتوسنتزی برگ و میزان آسیب وارده به آن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hosseinzadeh *et al.*, 2016). از مهمترین پارامترهای فلورسانس کلروفیل که در تشخیص مدت تنش‌های محیطی کاربرد دارد، کارایی فتوسیستم II می‌باشد. کارایی فتوسیستم II در گیاهان از طریق تعیین نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر ( $F_v/F_m$ ) اندازه‌گیری می‌شود (Kiani *et al.*, 2008; Rahbarian *et al.*, 2011). مطالعات نشان می‌دهد که تنش خشکی همراه با تابش زیاد منجر به بازدارندگی انتقال الکترون و کاهش کارایی فتوسیستم II می‌شود (Lu *et al.*, 2002). از سنجش کارایی فتوسیستم II در برنامه‌های اصلاحی مربوط به بهبود تحمل به سرما در ذرت و برنج (Wilson *et al.*, 1993) و همچنین مقاومت به گرما در

جمله مهمترین دلایل پایین بودن پتانسیل عملکرد عدس در ایران، می‌توان به عملکرد پایین ارقام رایج، اتخاذ روش‌های نامناسب تولید و وقوع تنش‌های زیستی و غیرزیستی طی فصل رشد این گیاه اشاره کرد (Mevicar *et al.*, 2005). مهمترین فاکتور غیر زیستی تهدید کننده عدس، تنش رطوبتی است (Erskine *et al.*, 2009) و در واقع یکی از مهمترین مشکلات تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک مشکل کمبود آب و نزولات جوی است (Erskine *et al.*, 2009). از مهمترین اثرات منفی تنش کم‌آبی بر گیاهان می‌توان به بسته شدن روزنه‌ها و متعاقباً کاهش ورود  $\text{CO}_2$ ، بازدارندگی در انتقال الکترون، کاهش عملکرد فتوسیستم II و در نهایت فتوسنتز اشاره کرد (Hosseinzadeh *et al.*, 2016). اولین پاسخ گیاهان به تنش کم‌آبی، بستن روزنه‌ها جهت کاهش تعرق و حفظ آب موجود در گیاه است. از طرف دیگر با بسته شدن روزنه‌ها ورود  $\text{CO}_2$  به سلول‌های برگ برای انجام فرآیند فتوسنتز کاهش یافته و در نتیجه آنزیم روبیسکو به علت افزایش میزان اکسیژن در مسیر تنفس نوری قرار می‌گیرد (Dawood *et al.*, 2013). تنفس نوری می‌تواند تا ۲۰٪ سبب اتلاف کربن در گیاهان شده و در نهایت منجر به کاهش عملکرد شود (Fall and Benson, 1996).

نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که افزایش غلظت  $\text{CO}_2$  درون برگ منجر به کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در گیاهان می‌شود (Downie *et al.*, 2004; Ramadant and Omran, 2005). یکی از روش‌های افزایش  $\text{CO}_2$  درون برگ استفاده از ترکیباتی نظیر متانول، اتانول، پروپانول و بوتانول می‌باشند که قابلیت تبدیل شدن به  $\text{CO}_2$  را دارند (Makhdum *et al.*, 2002; Zbiec *et al.*, 2003). در بین این ترکیبات متانول ماده کاملاً شناخته شده برای گیاهان می‌باشد، زیرا این ماده یکی از ساده‌ترین فرآورده‌های گیاهی بوده که توسط گیاهان خصوصاً طی رشد برگ‌ها و در اثر دمتیلاسیون پکتین در دیواره‌های سلولی ایجاد می‌شود (Haston and Roj, 2001; Madhaiyan *et al.*, 2006). پس از تولید، مقداری از متانول از برگ‌ها خارج و وارد لایه مرزی و

محققان انتخاب شد. هر واحد آزمایشی در این مطالعه، یک گلدان به حجم ۲ کیلوگرم بود. برای تهیه خاک هر گلدان، خاک تهیه شده ابتدا از الک دو میلی‌متر عبور داده و به میزان ۱/۵ کیلوگرم در هر گلدان ریخته شد. بذره‌های عدس رقم گچساران به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شد و سپس در چهار قسمت از گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۷ سانتی‌متر کشت شدند و پس از سبز شدن به ۳ عدد گیاهچه در هر گلدان کاهش یافت. گلدان‌ها در اتاقک رشد در شرایط کنترل شده با درجه حرارت روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۲/۵ ساعت روشنایی (شدت نور  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  و رطوبت ۴۰ درصد) و ۱۱/۵ ساعت تاریکی قرار گرفتند. محلول پاشی متانول با فاصله ۱۰ روز و در طی فصل رویشی گیاه انجام شد. اولین محلول‌پاشی در مرحله گیاهچه‌ای (۴ هفته پس از کاشت) و محلول‌پاشی‌های دیگر به ترتیب در اوایل گلدهی و اوایل غلاف دهی انجام شد. نحوه محلول‌پاشی به این صورت انجام گرفت که بر روی تمام قسمت‌های بوته عدس قطرات محلول جاری شد. اندازه‌گیری صفات، یک روز بعد از هر بار محلول‌پاشی و در ساعت ۹-۱۱ صبح انجام گرفت. برای تعیین محتوای کلروفیل کل، از دستگاه کلروفیل متر مدل (CCM- 200 plus) ساخت شرکت Opti-sciences استفاده شد. اندازه‌گیری میزان فتوسنتز، تعرق و غلظت  $\text{CO}_2$  درون برگی با دستگاه اندازه‌گیری تبادلات گازی در برگ مدل KR8700 ساخت شرکت Korea Tech انجام شد. به منظور سنجش کارایی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ )، ابتدا با استفاده از گیره-های مخصوص دستگاه، سطح برگ مورد نظر به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت، سپس با اتصال رابط دستگاه به برگ نسبت  $F_v/F_m$ ، بوسیله دستگاه کلروفیل فلوریمتر مدل (Poket PEA) ساخت شرکت hansatech انگلستان خوانده شد. برای رعایت شرایط یکنواخت، از برگ دوم و سوم در هر بوته استفاده شد و از هر تکرار ۶ بار شاخص‌های ذکر شده اندازه‌گیری شد و میانگین کل به عنوان عدد موردنظر یادداشت شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها

آفتابگردان (Wilson et al., 1993) و تحمل به تنش خشکی در سبب زمینی (Ranalli et al., 1997) استفاده شده است. در مطالعه بر روی گیاه نخود گزارش شد که متانول منجر به افزایش کارایی فتوسیستم II در هر بار محلول‌پاشی نسبت به سطوح کنترل شد (Hossienzadeh et al., 2014). در برگ گندم، یولاف و مو، محتوای کلروفیل بعد از محلول‌پاشی با متانول افزایش معنی‌داری یافت (Ramadant and Omran, 2005).

تحقیقات بسیار اندکی در زمینه برهم کنش محلول‌پاشی متانول و تنش کمبود آب بر ویژگی‌های فتوسنتزی در ایران وجود دارد. از آنجا که عدس یک محصول با ارزش اقتصادی است و در رژیم غذایی مردم ایران نقش بارزی دارد و نظر به این که زمین‌های کشاورزی در ایران غالباً با کمبود آب مواجه هستند، لذا در تحقیق حاضر تلاش شده است تا ضمن بررسی اثر محلول‌پاشی برگی متانول در کاهش اثرات ناشی از تنش کمبود آب در گیاه عدس، بهترین غلظت محلول‌پاشی متانول در ارتباط با شاخص‌های فتوسنتزی گیاه عدس در شرایط گلخانه تعیین شود.

#### مواد و روش‌ها:

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهمان انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در آزمایش عبارت بودند از محلول‌پاشی متانول در ۵ سطح شامل کنترل (بدون محلول پاشی)، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی که به هر کدام از سطوح محلول‌پاشی دو گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. به منظور ایجاد شرایط یکسان، محلول پاشی سطح کنترل بوسیله آب مقطر به همراه دو گرم در لیتر گلیسین انجام شد. افزودن گلیسین به محلول آبی متانول سبب جلوگیری از صدمات ناشی از سمیت متانول می‌شود. تنش کم‌آبی شامل تنش کم‌آبی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنش کم‌آبی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) در نظر گرفته شد. سطوح خشکی بر اساس آزمایش‌های مقدماتی و نتایج تحقیقات سایر

آزمون چند دامنه دانکن ( $P \leq 0.05$ ) بکار رفت.

### نتایج:

**عملکرد فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ):** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در هر بار محلول پاشی نشان داد که محلول پاشی متانول، تنش کم‌آبی و اثر متقابل متانول و تنش کمبود آب تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر کارایی فتوسیستم II داشت (جدول ۱، ۲ و ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در برهم‌کنش متانول و تنش کم‌آبی در محلول پاشی اول نشان داد که سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی متانول در تمامی تیمارهای تنش کم‌آبی، منجر به افزایش معنی‌داری در عملکرد فتوسیستم II نسبت به سطوح کنترل شد. کمترین عملکرد فتوسیستم II در سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش کم‌آبی شدید مشاهده شد که می‌توان به سمیت متانول در غلظت‌های بالا (Hosseinzadeh et al., 2014) نسبت داد (جدول ۴). در اثرات متقابل متانول و تنش کم‌آبی در محلول پاشی دوم، نتایج (جدول ۵) نشان داد که در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی ملایم، تمامی سطوح متانول به جز سطح ۳۵ درصد حجمی، منجر به افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به کنترل شد اما در شرایط تنش کم‌آبی شدید این سطوح متانول با سطح کنترل، اختلاف معنی‌داری نداشت. سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش کم‌آبی ملایم و شدید منجر به کاهش معنی‌داری در میزان کارایی فتوسیستم II نسبت به دیگر سطوح شد. در محلول پاشی سوم، نتایج (جدول ۶) نشان داد که سطح ۲۵ درصد حجمی در تمامی تیمارهای تنش مورد بررسی، بیشترین میزان کارایی فتوسیستم II را نسبت به سطوح کنترل در هر تیمار تنش کم‌آبی داشت و کمترین میزان این صفت در سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش ملایم مشاهده شد که با سطوح ۳۵ درصد حجمی در شرایط بدون تنش و تنش شدید اختلاف معنی‌داری نداشت.

**محتوای کلروفیل:** نتایج تجزیه واریانس مشاهدات طی محلول پاشی در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی نشان داد که اثر متانول و تنش کم‌آبی بر محتوای کلروفیل بوته‌های

عده معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۱، ۲ و ۳). مقایسه میانگین داده‌ها در اثرات متقابل نشان داد که در محلول پاشی اول در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطوح متانول منجر به افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل کل نسبت به سطح کنترل شد. در شرایط تنش کم‌آبی ملایم و شدید سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی نسبت به سطوح کنترل افزایش معنی‌داری در محتوای کلروفیل داشت، اما سطح ۳۵ درصد حجمی در شرایط تنش ملایم و شدید با سطوح کنترل در تیمارهای تنش ملایم و شدید، اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها در مرحله گلدهی نشان داد که بیشترین محتوای کلروفیل در سطح ۲۵ درصد حجمی در تیمار تنش کم‌آبی ملایم مشاهده شد که با سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی در شرایط بدون تنش و سطوح ۵ و ۱۰ درصد حجمی متانول در تیمار تنش ملایم تفاوت معنی‌داری نداشت. در تیمار تنش کم‌آبی شدید، محتوای کلروفیل در کلیه سطوح متانول کاهش معنی‌داری نسبت به دیگر سطوح داشت (جدول ۵). در برهم‌کنش متقابل متانول و تنش کم‌آبی در مرحله غلاف‌دهی، نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی سطح ۲۵ درصد حجمی متانول منجر به افزایش ۳۳ درصدی محتوای کلروفیل نسبت به سطح کنترل شد که با سطح ۱۵ درصد حجمی نیز اختلاف معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش ملایم و شدید، محلول پاشی با غلظت ۲۵ درصد حجمی منجر به افزایش معنی‌داری نسبت به سطوح کنترل شد. سطح ۳۵ درصد حجمی نیز نسبت به سطح کنترل در شرایط تنش ملایم و شدید کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۶).

**غلظت  $CO_2$  درون سلولی:** آنالیز واریانس داده‌ها در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی نشان داد که اثر محلول پاشی متانول و تنش کم‌آبی بر غلظت  $CO_2$  درون سلولی معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) نبود (جدول ۱، ۲ و ۳). مقایسه میانگین داده‌ها در اثرات متقابل متانول و تنش در مرحله گیاهچه‌ای نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، افزایش غلظت محلول پاشی متانول از ۵ تا ۲۵ درصد حجمی منجر به افزایش معنی‌داری در غلظت  $CO_2$  درون سلولی نسبت به سطح کنترل شد. سطح ۳۵

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های فتوسنتزی مربوط به مرحله گیاهچه‌ای در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد فتوسیستم II	محتوای کلروفیل	فتوستنز	CO <sub>2</sub> درون سلولی	تعرق
میانگین مربعات						
متانول	۴	۰/۰۰۵ **	۷/۴۳۳ **	۱۱/۷۸۵ *	۳۵۲۰/۶۵۳ **	۸۷/۸۰۲ **
تنش خشکی	۲	۰/۰۰۳ **	۲۰/۶۹۳ **	۷۴/۳۶۶ **	۷۲۲۰/۶۵۴ **	۲۶۱۰/۹۸۸ **
متانول×تنش	۸	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۲۳۵ ns	۰/۹۹۴ **	۲۴۹/۹۷۰ **	۹/۱۴۴ ns
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۲۹۶	۰/۲۷۵	۶۰/۱۳۰	۸/۱۶۸
ضریب تغییرات	-	۱/۳۸	۱۳/۸۲	۶/۳۱	۱/۰۵	۸/۹۸

ns، \*، \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های فتوسنتزی مربوط به مرحله گلدهی در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد فتوسیستم II	محتوای کلروفیل	فتوستنز	CO <sub>2</sub> درون سلولی	تعرق
میانگین مربعات						
متانول	۴	۰/۰۰۹ **	۷/۱۴۴ **	۳۵/۹۵۲ **	۶۶۳۵/۷۵۰ **	۲۴۳/۱۱۳ **
تنش خشکی	۲	۰/۰۳۰ **	۴۷/۵۸۰ **	۱۴۷/۴۵۵ **	۱۴۳۵۳/۶۴۹ **	۳۳۵۴/۷۹۸ **
متانول×تنش	۸	۰/۰۰۱ **	۱/۲۵۹ **	۳/۷۱۳ **	۷۳۲/۳۶۷ ns	۸۴/۹۵۳ **
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۱۵۲	۰/۸۰۹	۴۲۹/۱۹۷	۲۰/۷۳۶
ضریب تغییرات	-	۱/۷۲	۸/۳۰	۶/۵۱	۲/۷۳	۱۱/۸۳

ns، \*، \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص‌های فتوسنتزی مربوط به مرحله غلاف‌دهی در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد فتوسیستم II	محتوای کلروفیل	فتوستنز	CO <sub>2</sub> درون سلولی	تعرق
میانگین مربعات						
متانول	۴	۰/۰۳۸ **	۱۵/۱۰۴ **	۸۱/۲۹۱ **	۲۹۶۵/۰۳۲ **	۲۶۰/۲۷۳ **
تنش خشکی	۲	۰/۰۵۳ **	۲۷/۴۷۶ **	۱۱۶/۳۹۴ **	۴۲۰۶۰/۶۰۸ **	۲۹۵۰/۲۸۸ **
متانول×تنش	۸	۰/۰۰۶ **	۰/۴۸۰ ns	۳/۴۳۹ ns	۲۵۲/۳۵۶ ns	۱۱۱/۰۲۱ **
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۴۵۷	۲/۹۳۶	۲۹۵/۳۵۶	۱۸/۷۸۲
ضریب تغییرات	-	۱/۹۲	۱۱/۲۷	۱۰/۵۱	۲/۲۳	۷/۹۰

ns، \*، \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

سطوح متانول در تیمار تنش ملایم شد. در تیمار تنش کم‌آبی شدید مشاهده شد که سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی در یک گروه آماری و سطوح کنترل و ۳۵ درصد حجمی در گروه دیگر قرار گرفتند، به طوری که در این شرایط سطح ۲۵ درصد حجمی بیشترین و سطح ۳۵ درصد حجمی کمترین غلظت CO<sub>2</sub> درون سلولی را داشت (جدول ۴). در مرحله گلدهی با

درصد حجمی متانول در این شرایط نسبت به سطح کنترل کاهش معنی‌داری داشت. در تیمار تنش ملایم، سطح ۵ درصد حجمی متانول نسبت به سطح کنترل در این صفت افزایش معنی‌داری داشت اما با سطوح ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی متانول تفاوت معنی‌داری نداشت. سطح ۳۵ درصد حجمی نیز منجر به کاهش معنی‌دار غلظت CO<sub>2</sub> درون سلولی نسبت به دیگر

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص‌های فتوسنتزی مربوط به مرحله گیاهچه‌ای در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم آبی

تیمارها/ متانول	عملکرد فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ )	محتوای کلروفیل	فتوسنتز ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> درون سلولی (ppm)	تعرق ( $\text{mg dm}^{-2}\text{hr}^{-1}$ )
بدون تنش خشکی (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۶۹۴ <sup>gh</sup>	۳/۴۰۰ <sup>b</sup>	۷/۸۷۷ <sup>cd</sup>	۷۴۴/۷ <sup>cde</sup>	۴۹/۸۰ <sup>a</sup>
٪۵	۰/۷۲۶ <sup>cd</sup>	۵/۵۰۰ <sup>a</sup>	۱۰/۰۵ <sup>b</sup>	۷۷۵/۳ <sup>ab</sup>	۴۸/۵۷ <sup>ab</sup>
٪۱۵	۰/۷۳۵ <sup>bc</sup>	۵/۲۶۷ <sup>a</sup>	۱۱/۴۸ <sup>a</sup>	۷۷۷/۳ <sup>a</sup>	۴۴ <sup>bc</sup>
٪۲۵	۰/۷۵۴ <sup>a</sup>	۵/۸۰۰ <sup>a</sup>	۱۲/۱۵ <sup>a</sup>	۷۸۹/۷ <sup>a</sup>	۴۱/۴۹ <sup>c</sup>
٪۳۵	۰/۶۹۳ <sup>gh</sup>	۵ <sup>a</sup>	۹/۵۰۳ <sup>b</sup>	۷۲۱ <sup>fgh</sup>	۵۰/۴۶ <sup>a</sup>
تنش خشکی ملایم (۷۵٪ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۶۹۵ <sup>fgh</sup>	۳/۲۲۱ <sup>b</sup>	۷/۳۸۰ <sup>de</sup>	۷۳۸ <sup>def</sup>	۳۲/۹۲ <sup>d</sup>
٪۵	۰/۷۲۴ <sup>cd</sup>	۵/۱۶۷ <sup>a</sup>	۸/۹۰۷ <sup>bc</sup>	۷۵۸/۵ <sup>bc</sup>	۲۶/۵۸ <sup>e</sup>
٪۱۵	۰/۷۲۸ <sup>bcd</sup>	۵/۱۲۵ <sup>a</sup>	۹/۸۴۳ <sup>b</sup>	۷۵۰/۴ <sup>cd</sup>	۲۳/۰۵ <sup>efg</sup>
٪۲۵	۰/۷۴۵ <sup>ab</sup>	۵/۳۶۷ <sup>a</sup>	۱۰/۱۱ <sup>b</sup>	۷۴۵/۳ <sup>cde</sup>	۲۳/۶۳ <sup>efg</sup>
٪۳۵	۰/۶۹۷ <sup>fgh</sup>	۳/۵۰۰ <sup>b</sup>	۸/۰۹۳ <sup>cd</sup>	۷۱۵ <sup>gh</sup>	۲۶/۲۹ <sup>e</sup>
تنش خشکی شدید (۲۵٪ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۶۸۲ <sup>h</sup>	۱/۸۰۰ <sup>c</sup>	۴/۷۵۳ <sup>g</sup>	۷۰۴/۲ <sup>hi</sup>	۲۵/۲۱ <sup>ef</sup>
٪۵	۰/۷۰۵ <sup>efg</sup>	۳/۳۶۷ <sup>b</sup>	۶/۰۷۷ <sup>f</sup>	۷۲۴/۴ <sup>fg</sup>	۲۲/۱۵ <sup>efg</sup>
٪۱۵	۰/۷۱۲ <sup>def</sup>	۳/۰۶۷ <sup>b</sup>	۶/۳۱۳ <sup>ef</sup>	۷۳۰/۸ <sup>efg</sup>	۲۰/۷۰ <sup>fg</sup>
٪۲۵	۰/۷۱۹ <sup>cde</sup>	۲/۸۶۷ <sup>b</sup>	۶/۳۲۷ <sup>ef</sup>	۷۳۳/۲ <sup>defg</sup>	۱۹/۶۶ <sup>g</sup>
٪۳۵	۰/۶۶۳ <sup>i</sup>	۱/۸۸۳ <sup>c</sup>	۵/۸۴۷ <sup>fg</sup>	۶۹۶/۱ <sup>i</sup>	۲۳/۰۴ <sup>efg</sup>

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

شرایط بدون تنش، غلظت CO<sub>2</sub> درون برگ‌گی در بین سطوح محلول پاشی متانول اختلاف معنی‌داری نداشت، اما در شرایط تنش کم آبی ملایم و شدید سطح ۳۵ درصد حجمی منجر به کاهش معنی‌داری در این صفت نسبت به دیگر سطوح شد (جدول ۶).

**فتوستتزر (آسیمیلایسیون CO<sub>2</sub>):** نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در هر ۳ مرحله نشان داد که محلول پاشی متانول و تنش کم آبی، تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر فتوستتزر گیاه عدس داشت (جدول ۱، ۲ و ۳). بررسی اثرات متقابل متانول و تنش در محلول پاشی اول در مرحله گیاهچه‌ای نشان داد که در شرایط بدون تنش، تمامی سطوح متانول در یک گروه آماری و سطح کنترل در گروه دیگر قرار گرفت. در بین سطوح محلول پاشی در این شرایط سطح ۲۵ درصد حجمی بیشترین میزان

توجه به نتایج جدول (۵) مشاهده شد که در شرایط بدون تنش سطوح محلول پاشی متانول به جز سطح ۳۵ درصد حجمی، منجر به افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به سطح کنترل شد اما با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. در تیمار تنش ملایم، تمامی سطوح متانول با سطح کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت، اما سطح ۳۵ درصد حجمی نسبت به سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی کاهش معنی‌داری داشت. در تیمار تنش کم آبی شدید، سطح ۱۵ درصد حجمی بیشترین میزان CO<sub>2</sub> درون برگ‌گی را داشت که با سطوح ۵ و ۲۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان نیز به سطح ۳۵ درصد حجمی تعلق داشت که به جز سطح ۱۵ درصد حجمی با دیگر سطوح در این تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در مرحله غلاف‌دهی، نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص‌های فتوسنتزی مربوط به مرحله گلدهی در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

تیمارها/ متانول	عملکرد فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ )	محتوای کلروفیل	فتوستنتر ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> درون سلولی (ppm)	تعرق ( $\text{mg dm}^{-2}\text{hr}^{-1}$ )
بدون تنش خشکی (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۶۷ <sup>d</sup>	۴/۷۰ <sup>bc</sup>	۱۴/۳۱ <sup>bc</sup>	۷۸۲/۵ <sup>b</sup>	۷۱/۹۵ <sup>a</sup>
٪۵	۰/۸۳۱ <sup>ab</sup>	۶ <sup>a</sup>	۱۵/۸۹ <sup>b</sup>	۸۱۸ <sup>a</sup>	۵۳/۳۹ <sup>b</sup>
٪۱۵	۰/۸۲۴ <sup>b</sup>	۶/۷ <sup>a</sup>	۱۹/۵۰ <sup>a</sup>	۸۲۱/۲ <sup>a</sup>	۵۰/۱۱ <sup>bc</sup>
٪۲۵	۰/۸۵۰ <sup>a</sup>	۶/۴۳ <sup>a</sup>	۱۹/۶۵ <sup>a</sup>	۸۲۱/۵ <sup>a</sup>	۴۲/۴۱ <sup>cd</sup>
٪۳۵	۰/۷۷۴ <sup>cd</sup>	۳/۸۰ <sup>c</sup>	۱۳/۷۲ <sup>cd</sup>	۷۲۳/۱ <sup>de</sup>	۵۸/۹۷ <sup>b</sup>
تنش خشکی ملایم (۷۵٪ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۳۳ <sup>e</sup>	۵/۱۰ <sup>b</sup>	۱۱/۲۴ <sup>ef</sup>	۷۴۰/۸ <sup>cde</sup>	۳۵/۵۷ <sup>de</sup>
٪۵	۰/۷۷۱ <sup>cd</sup>	۶/۳۶ <sup>a</sup>	۱۱/۶۵ <sup>def</sup>	۷۵۳/۶ <sup>bcd</sup>	۳۴/۹۳ <sup>def</sup>
٪۱۵	۰/۷۹۲ <sup>c</sup>	۶/۸۰ <sup>a</sup>	۱۵/۹۴ <sup>b</sup>	۷۶۸/۱ <sup>bc</sup>	۳۲/۱۹ <sup>def</sup>
٪۲۵	۰/۷۸۶ <sup>cd</sup>	۶/۹۶ <sup>a</sup>	۱۴/۱۸ <sup>bc</sup>	۷۶۸/۷ <sup>bc</sup>	۲۷/۵۴ <sup>ef</sup>
٪۳۵	۰/۶۷۷ <sup>f</sup>	۳/۹۳ <sup>c</sup>	۱۰/۷۰ <sup>ef</sup>	۷۲۰ <sup>de</sup>	۳۵/۵۴ <sup>de</sup>
تنش خشکی شدید (۲۵٪ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۲۱ <sup>e</sup>	۲/۳۳ <sup>d</sup>	۱۰/۲۳ <sup>ef</sup>	۷۲۳/۹ <sup>de</sup>	۲۸/۵۴ <sup>ef</sup>
٪۵	۰/۷۳۱ <sup>e</sup>	۲/۶۶ <sup>d</sup>	۱۱/۰۵ <sup>ef</sup>	۷۳۶/۱ <sup>cde</sup>	۲۶/۷۴ <sup>ef</sup>
٪۱۵	۰/۷۲۴ <sup>e</sup>	۲/۸۰ <sup>d</sup>	۱۱/۶۷ <sup>def</sup>	۷۶۵/۸ <sup>bc</sup>	۲۸/۳۵ <sup>ef</sup>
٪۲۵	۰/۷۳۰ <sup>e</sup>	۲/۷۳ <sup>d</sup>	۱۲/۱۷ <sup>cde</sup>	۷۳۴/۴ <sup>cde</sup>	۲۳/۵۳ <sup>f</sup>
٪۳۵	۰/۶۹۸ <sup>f</sup>	۲/۵۰ <sup>d</sup>	۹/۸۵ <sup>f</sup>	۷۰۶/۱ <sup>e</sup>	۲۷/۴۱ <sup>ef</sup>

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

تفاوت معنی‌داری با سطح کنترل نداشتند (جدول ۵). در برهم کنش متانول و تنش کم‌آبی در مرحله غلاف‌دهی نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطح ۲۵ درصد حجمی متانول بیشترین میزان فتوستنتر را داشت که به جز سطح ۱۵ درصد حجمی با سایر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان فتوستنتر در سطح ۳۵ درصد حجمی مشاهده شد که با سطح کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش ملایم، تمامی سطوح محلول پاشی با سطح کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت، اما در شرایط تنش شدید، سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی نسبت به سطح کنترل منجر به افزایش معنی‌دار فتوستنتر شد (جدول ۶).

**تعرق:** نتایج آنالیز واریانس مشاهدات در محلول پاشی اول، دوم و سوم نشان داد که محلول پاشی متانول و تنش کم‌آبی

فتوستنتر را داشت که به جز سطح ۱۵ درصد با سایر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. در شرایط تنش کم‌آبی ملایم و شدید مشاهده شد که سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی متانول نسبت به سطوح کنترل در این شرایط افزایش معنی‌داری داشت، اما نسبت به یکدیگر سطوح محلول پاشی متانول در شرایط تنش شدید نسبت به تنش ملایم کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها در محلول پاشی دوم (مرحله گلدهی) نشان داد که سطوح ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی متانول در شرایط بدون تنش کم‌آبی و تنش ملایم میزان فتوستنتر را نسبت به سطوح کنترل در این شرایط به صورت معنی‌داری افزایش داد. سطح ۳۵ درصد حجمی در شرایط بدون تنش و تنش ملایم تفاوت معنی‌داری با سطوح کنترل نداشت. در شرایط تنش شدید، سطوح محلول پاشی متانول

جدول ۶- مقایسه میانگین شاخص‌های فتوسنتزی مربوط به مرحله غلاف‌دهی در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

تیمارها/ متانول	عملکرد فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ )	محتوای کلروفیل	فتوسنتز ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	CO <sub>2</sub> درون سلولی (ppm)	تعرق ( $\text{mg dm}^{-2}\text{hr}^{-1}$ )
بدون تنش خشکی (۱۰۰ ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۸۶ <sup>e</sup>	۶/۱ <sup>bcd</sup>	۱۵/۹۷ <sup>bc</sup>	۸۲۳ <sup>a</sup>	۸۹/۴۶ <sup>a</sup>
%۵	۰/۸۹۶ <sup>c</sup>	۷/۳ <sup>b</sup>	۱۷/۸۳ <sup>b</sup>	۸۴۲/۳ <sup>a</sup>	۶۸/۵۳ <sup>b</sup>
%۱۵	۰/۹۳۱ <sup>b</sup>	۸/۵ <sup>a</sup>	۱۹/۲۳ <sup>ab</sup>	۸۳۶/۲ <sup>a</sup>	۶۵/۱۳ <sup>bc</sup>
%۲۵	۰/۹۵۸ <sup>a</sup>	۹/۲۳ <sup>a</sup>	۲۲/۹۷ <sup>a</sup>	۸۴۳ <sup>a</sup>	۵۶/۵۷ <sup>cd</sup>
%۳۵	۰/۷۱۴ <sup>gh</sup>	۵/۵ <sup>cde</sup>	۱۳/۶۸ <sup>cde</sup>	۸۱۲/۸ <sup>a</sup>	۷۳/۶۴ <sup>b</sup>
تنش خشکی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۵۰ <sup>f</sup>	۵/۸۰ <sup>cd</sup>	۱۴/۸۱ <sup>bcd</sup>	۷۶۰/۱ <sup>b</sup>	۵۰/۵۹ <sup>de</sup>
%۵	۰/۸۲۱ <sup>d</sup>	۶/۱۶ <sup>bc</sup>	۱۷/۸۵ <sup>b</sup>	۷۶۰/۶ <sup>b</sup>	۵۱/۱۳ <sup>de</sup>
%۱۵	۰/۸۷۶ <sup>c</sup>	۶/۸۳ <sup>bc</sup>	۱۷/۷۷ <sup>b</sup>	۷۵۲/۳ <sup>bc</sup>	۴۹/۰۲ <sup>de</sup>
%۲۵	۰/۸۴۱ <sup>d</sup>	۷/۲۳ <sup>b</sup>	۱۷/۳۰ <sup>b</sup>	۷۶۳/۱ <sup>b</sup>	۴۷/۴۰ <sup>de</sup>
%۳۵	۰/۷۰۲ <sup>h</sup>	۴/۰۳ <sup>f</sup>	۱۲/۳۲ <sup>def</sup>	۷۰۳/۹ <sup>d</sup>	۵۱/۴۷ <sup>de</sup>
تنش خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۳۴ <sup>fg</sup>	۴/۴ <sup>ef</sup>	۱۱/۶۲ <sup>ef</sup>	۷۴۱/۹ <sup>bc</sup>	۴۷/۸۱ <sup>de</sup>
%۵	۰/۷۳۵ <sup>fg</sup>	۴/۸ <sup>def</sup>	۱۴/۹۷ <sup>bcd</sup>	۷۴۲/۷ <sup>bc</sup>	۴۲/۲۵ <sup>e</sup>
%۱۵	۰/۷۴۲ <sup>f</sup>	۵/۵ <sup>cde</sup>	۱۵/۴۱ <sup>bcd</sup>	۷۴۶/۹ <sup>bc</sup>	۴۱/۷۱ <sup>e</sup>
%۲۵	۰/۷۷۵ <sup>e</sup>	۵/۶ <sup>cde</sup>	۱۶/۰۸ <sup>bc</sup>	۷۵۱/۴ <sup>bc</sup>	۴۱/۴۶ <sup>e</sup>
%۳۵	۰/۷۰۴ <sup>h</sup>	۲/۷ <sup>g</sup>	۱۰/۲۸ <sup>f</sup>	۷۰۳/۳ <sup>d</sup>	۴۶/۵۰ <sup>de</sup>

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

سطوح محلول پاشی متانول منجر به کاهش معنی‌داری در میزان تعرق در مقایسه با سطح کنترل شد، به طوری که در این شرایط بیشترین و کمترین تعرق به ترتیب به سطوح کنترل و ۲۵ درصد حجمی متانول اختصاص داشت. در شرایط تنش ملایم و شدید، تفاوت معنی‌داری بین سطوح محلول پاشی و سطح کنترل وجود نداشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین مشاهدات در محلول پاشی سوم نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطح کنترل بیشترین میزان تعرق را داشت که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت و کمترین میزان این صفت نیز در شرایط بدون تنش، در سطح ۲۵ درصد حجمی متانول بود که با سطح ۱۵ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش ملایم و شدید، کلیه سطوح متانول با

تأثیر بسیار معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر میزان تعرق در گیاه عدس داشت (جدول ۱، ۲ و ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در اثرات متقابل متانول و تنش در محلول پاشی اول نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطوح ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی کاهش معنی‌داری نسبت به سطح کنترل داشت. سطوح ۵ و ۳۵ درصد حجمی متانول در این شرایط تفاوت معنی‌داری با سطح کنترل نداشت. در شرایط تنش ملایم، تمامی سطوح محلول پاشی متانول منجر به کاهش تعرق در مقایسه با سطح کنترل شد، اما در شرایط تنش شدید، کمترین میزان تعرق در سطح ۲۵ درصد حجمی مشاهده شد که با سطح کنترل اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۴). در محلول پاشی دوم، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط بدون تنش کمبود آب،



یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۶).

افزایش فرآیند کربوکسیلاسیون در مقایسه با فرآیند اکسیژناسیون آنزیم روبیسکو می‌شود (Hosseinzadeh et al., 2014).

بحث:

**محتوای کلروفیل:** در مطالعه بر روی اثرات تنش کم‌آبی بر ژنوتیپ‌های نخود گزارش کردند که با کاهش میزان آب قابل دسترس، محتوای کلروفیل کل در بافت سبز برگ کاهش می‌یابد (Rahbarian et al., 2011). ثبات کلروفیل به عنوان شاخصی از تنش کم‌آبی مطرح است و شاخص پایداری بالا به معنی بی‌تأثیر بودن اثرات تنش بر گیاه می‌باشد و موجب دسترسی بهتر گیاه به کلروفیل می‌شود (Guerfel et al., 2008). مطالعات متعددی نشان داده گیاهانی که در شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرند، جذب منیزیم و آهن از خاک در آن‌ها کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش میزان سنتز کلروفیل می‌باشد (Keles and Onsel, 2004). از طرف دیگر، از مهمترین اثرات منفی ناشی از تنش کم‌آبی در گیاهان افزایش رادیکال‌های آزاد بوده که سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌شوند (Flexas and Medrano, 2008). در این مطالعه نیز مشاهده شد که تنش کم‌آبی شدید منجر به کاهش معنی‌داری در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی شد اما کلروفیل در شرایط تنش ملایم در مقایسه با شرایط بدون تنش کم‌آبی کاهش معنی‌داری نداشت. در آزمایشی بر روی گیاه نخود مشاهده شد که متانول از طریق تأثیر بر خصوصیات ریشه از قبیل طول ریشه اصلی، سطح ریشه و وزن خشک ریشه در جذب برخی عناصر ریزمغذی مانند آهن موثر است (Hosseinzadeh et al., 2012). آهن به عنوان گروه پروستتیک هموپروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است (Keles and Onsel, 2004) که نقش اصلی در نابودی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) و پایداری کلروفیل در گیاهان دارند. در این ارتباط Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که محلول پاشی متانول در سطح ۲۰ درصد حجمی بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز را نسبت به دیگر سطوح متانول داشت. کاربرد متانول به صورت محلول پاشی بر روی برگ‌های گیاهان سبب افزایش پتانسیل تورگر شده و علت آن دو برابر

**عملکرد فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ):** مطالعات مختلف گزارش کردند که تحت تنش‌های محیطی نظیر خشکی و گرما، کاهش نسبت  $F_v/F_m$  شاخص بسیار مناسبی جهت ارزیابی بازدارندگی نوری در گیاهان است (Paknejad et al., 2007; Hosseinzadeh et al., 2016). شاخص  $F_v/F_m$  نشان دهنده ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II است که با عملکرد کوانتوم فتوستنز خالص همبستگی بالایی دارد (Zlatev and Yordanov, 2004). تحت شرایط تنش کم‌آبی به علت کاهش انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I و افزایش شدید انرژی برانگیختگی در گیرنده‌های کلروفیل، عملکرد و کارایی فتوسیستم II کاهش می‌یابد (Lu et al., 2002). از طرف دیگر مشاهده شد که پروتئین  $D_1$  موجود در مرکز واکنش فتوسیستم II و کمپلکس آزادکننده اکسیژن تحت تأثیر تنش کم‌آبی شدید تخریب می‌شوند (Zlatev and Yordanov, 2004). در حالت کلی کاهش نسبت  $F_v/F_m$  منجر به کاهش میزان حفاظت نوری شده و دلیلی است بر اینکه تنش کم‌آبی بر کارایی فتوستنز اثر معنی‌داری گذاشته است (Ali-Dib et al., 1994). Rahbarian و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که با افزایش سطوح خشکی نسبت  $F_v/F_m$  کمترین میزان را نسبت به شرایط بدون تنش داشت که این محققین علت را تخریب مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تأثیر تنش خشکی بیان کردند. در این مطالعه مشاهده شد که تنش کم‌آبی منجر به کاهش معنی‌داری در عملکرد فتوسیستم II نسبت به شرایط بدون تنش شد. در مطالعه بر روی نخود تحت شرایط تنش خشکی مشاهده شد که سطوح محلول پاشی متانول منجر به افزایش معنی‌داری در نسبت  $F_v/F_m$  در مقایسه با سطح بدون کاربرد متانول شد (Hosseinzadeh et al., 2014). مهمترین تأثیر محلول پاشی متانول بر حفاظت از دستگاه فتوستنزی در شرایط تنش خشکی، کاهش میزان گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در شرایط تنش خشکی است، به طوری که با افزایش میزان  $CO_2$  درون برگ منجر به

اکسیژناسیون کمتر در گیاه می‌شود (Hemming *et al.*, 1995). مطالعات نشان داده‌اند که ممانعت از آزادسازی O<sub>2</sub> که وابسته به CO<sub>2</sub> است و ممانعت از تثبیت CO<sub>2</sub> در شرایط تنش کم‌آبی با افزایش غلظت CO<sub>2</sub> محیط بهبود می‌یابد که این امر نشان دهنده نقش کلیدی روزنه‌ها در کاهش غلظت CO<sub>2</sub> در شرایط تنش کم‌آبی است (Tilahun and Sven, 2003).

**فتوستتزر (آسیمیلایسیون CO<sub>2</sub>):** تحقیقات متعدد نشان داده است که گیاهان تحت تأثیر تنش کم‌آبی ملایم با بستن روزنه‌ها و افزایش اسمولیت‌های سازگار از جمله پرولین و گلاسیسین بتائین، علاوه بر حفظ آب موجود، جذب آب از خاک را نیز افزایش می‌دهد (Hale *et al.*, 2005)، اما در تنش کم‌آبی شدید علاوه بر موارد ذکر شده، به دلیل انجام واکنش‌های تخریبی و بیوشمیایی، فتوستتزر به شدت کاهش می‌یابد (Johnson *et al.*, 2002). کاهش میزان آسیمیلایسیون CO<sub>2</sub> در پژوهش‌های مختلف به عنوان مهمترین اثر منفی ناشی از تنش کم‌آبی بیان شده است (Flexas and Medrano, 2008; Jaleel *et al.*, 2008). در این مطالعه نیز کاهش میزان تثبیت CO<sub>2</sub> در هر ۳ مرحله گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی در شرایط تنش کم‌آبی شدید و ملایم نسبت به شرایط بدون تنش مشاهده شد. متانول در مقایسه با CO<sub>2</sub> مولکول نسبتاً کوچکتری است که به راحتی توسط گیاهان، جذب شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (Downie *et al.*, 2004). گیاهان می‌توانند متانول محلول پاشی شده بر روی برگ‌ها را به راحتی جذب کرده و آن را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Gout *et al.*, 2000). متانول اکسیداز اولین آنزیم دخیل در روند تبدیل متانول (CH<sub>3</sub>OH) به CO<sub>2</sub> است که متانول تحت تأثیر این آنزیم تبدیل به فرمالدهید و سپس در مرحله دوم تبدیل به فرمات (فرمیک اسید) می‌شود. در مرحله بعد فرمات توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به CO<sub>2</sub> شده و منجر به افزایش CO<sub>2</sub> درون برگ با وجود بسته بودن روزنه‌ها می‌شود (Zbiec *et al.*, 2003; Dawood *et al.*, 2013). افزایش فتوستتزر در اثر کاربرد برگ‌گی متانول در غلظت ۲۰ درصد حجمی در پنبه (Makhdum *et al.*, 2002) و در غلظت ۳۰ درصد حجمی در نخود (Hossinzadeh *et al.*, 2014) گزارش شد.

شدن میزان قند تولید شده در برگ‌ها می‌باشد که منجر به افزایش میزان آب قابل دسترس برای گیاه می‌شود (Zbiec *et al.*, 2003; Nadali *et al.*, 2010). در مطالعاتی که بر روی گوجه فرنگی و فلفل انجام شد، محلول پاشی متانول به همراه گلیسین مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش داد (Row *et al.*, 1994). مطالعات Rajala و همکاران (۱۹۹۸) نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول پاشی متانول نشان داد. در مطالعه حاضر در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی مشاهده شد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی و تنش ملایم متانول در افزایش و ثبات کلروفیل نقش داشت.

**غلظت CO<sub>2</sub> درون برگ‌گی:** در بررسی بر روی برخی حبوبات مانند نخود و لوبیا مشاهده شد که در شرایط تنش کمبود آب غلظت CO<sub>2</sub> درون برگ‌گی کاهش می‌یابد که علت اصلی آن را بسته شدن روزنه‌ها به منظور کاهش هدر رفت آب گزارش کردند (Zlatev and Yordanov, 2004; Rahbarian *et al.*, 2011). یکی از دلایل اصلی کاهش فتوستتزر در شرایط تنش کم‌آبی، کاهش غلظت CO<sub>2</sub> درون برگ‌گی بوده که گهرمایه اولیه برای آنزیم رویسکو است (Hosseinzadeh *et al.*, 2014). مطالعات در زمینه محلول پاشی متانول بر گیاهان ۳ کربنه نشان داده است، متانول ترکیبی است که به راحتی توسط گیاهان جذب شده و تحت تأثیر آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به CO<sub>2</sub> می‌شود (Gout *et al.*, 2000; Downie *et al.*, 2004). افزایش غلظت CO<sub>2</sub> تحت تأثیر محلول پاشی متانول در گوجه فرنگی (Row *et al.*, 1994)، چغندر قند (Nadeali *et al.*, 2010) و نخود (Hosseinzadeh *et al.*, 2014) نیز گزارش شده است. یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد آنزیم رویسکو که آن را از سایر آنزیم‌های موجود در طبیعت متمایز نموده این است که رویسکو علاوه بر اینکه قابلیت کاتالیز فرآیند کربوکسیلاسیون را دارد، در صورت فراهم بودن شرایط قادر است فرآیند اکسیژناسیون را نیز کاتالیز کند (Makhdum *et al.*, 2002). متانول با متابولیزه شدن سریع به دی‌اکسید کربن (Gout *et al.*, 2000) و با افزایش CO<sub>2</sub> منجر به روند کربوکسیلاسیون بیشتر و

(Makhdum *et al.*, 2002; Dawood *et al.*, 2013)

### نتیجه گیری کلی:

در این تحقیق مشاهده شد که در هر سه مرحله محلول پاشی در شرایط بدون تنش کم‌آبی با افزایش متانول از ۵ به ۲۵ درصد حجمی نرخ تعرق کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش تعرق در اثر کاربرد متانول در شرایط بدون تنش کم‌آبی با افزایش CO<sub>2</sub> درون برگگی و حفظ بیشتر آب درون برگگی ارتباط مستقیم دارد به طوری که گیاه برای تأمین CO<sub>2</sub> لازم نیازی به بازکردن روزنه‌ها نداشته و آن را در دسترس دارد. در تحقیق حاضر در شرایط تنش ملایم و شدید، سطوح متانول با سطح کنترل از نظر نرخ تعرق تفاوت معنی‌داری نداشت.

### سپاسگزاری:

بجا و شایسته است از دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء به منظور پشتیبانی‌های مالی در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی نماییم. همچنین از جناب آقای مهدی رژه برای مساعدت‌های بی‌دریغشان در انجام این پروژه کمال تشکر را داریم.

**تعرق:** مهمترین پاسخ عمومی گیاهان به تنش‌های کم‌آبی ملایم و شدید، بستن روزنه‌ها است، در نتیجه میزان CO<sub>2</sub> درون سلولی کاهش می‌یابد که خود منجر به کاهش میزان فشار آماس در برگ می‌شود (Hosseinzadeh *et al.*, 2016). کاهش نرخ تعرق در تنش‌های کمبود آب به دلیل بسته شدن روزنه‌ها به عنوان سازشی جهت حفظ آب برگ و جلوگیری از هدر رفتن آن طی تعرق می‌باشد (Flexas and Medrano, 2008). نتایج این مطالعه نشان داد که تنش کم‌آبی شدید در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی منجر به کاهش معنی‌دار نرخ تعرق در مقایسه با سطح بدون تنش شد. مطالعات مختلف نشان داد که گیاهانی که از مکانیسم‌های کارآمد تری برای کاهش تعرق برخوردار هستند، قادر به تحمل بهتر شرایط تنش خشکی خواهند بود و با حفظ بیشتر آب درون برگگی، امکان رشد و انجام فرآیندهای سلولی را بهتر فراهم می‌نمایند (Pagter *et al.*, 2005; Bender Ozenc, 2008). در بررسی بر روی کتان و سویا گزارش دادند که متانول پس از محلول پاشی با افزایش میزان CO<sub>2</sub> درون سلولی سبب افزایش میزان آماس و قندسازی در برگ‌ها می‌شود

### منابع:

- 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: 65-73.
- Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S. R., Armand, N. and Fani, E. 2015. Effect of methanol on germination characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under drought stress. *Iranian Journal of Seed Research* 2: 83-96.
- Bender Ozenc, D. (2008) Growth and transpiration of tomato seedlings grown in Hazelnut Husk compost under water-deficit stress. *Compost Science & Utilization* 16: 125-13.
- Dawood, M. G., El-Lethy, S. R. and Sadak, M. SH. (2013) Role of methanol and yeast in improving growth, yield, nutritive value and antioxidants of soybean. *World Applied Sciences Journal* 26: 06-14.
- 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. *Phytochem* 65: 2305-2316.
- Erskine, W., Muehlbauer, F. J., Sarker, A. and Sharma, B. (2009) The Lentil, Botany, Production and Uses.
- Fall, R. and Benson, A. A. (1996) Leaf methanol, the simplest natural product from plants. *Trends in Plant Science*. 1: 296-301.
- Flexas, J. and Medrano H. (2008) Drought-inhibition of photosynthesis in C<sub>3</sub>- 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.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Cha, W. and Zarrouk, M. (2008) Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 1: 1-7.

- Hale, B., Herms, D., Hansen, R., Clausen, Th. 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 Plant Physiology* 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.
- Hosseinzadeh, S. R., Salimi A. and Ganjeali A. (2011). Effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Environmental stresses in crop science* 4: 139-150.
- Hosseinzadeh, S. R., Salimi, A., Ganjeali, A. and Ahmadpour, R. (2012) Effects of foliar application of methanol on growth and root characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *European Journal of Experimental Biology* 2:1697-1702.
- Hosseinzadeh, S. R., Amiri, H. and Ismaili, A. 2016. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica* 54: 87-92.
- Hosseinzadeh, S. R., Cheniany, M. and Salimi, A. (2014) Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Pulses Research* 5: 71-82.
- 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.
- 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.
- Kiani, S. P., Maury, P., Sarrafi, A. and Grieu, P. (2008) QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Science* 175: 565–573.
- Lu, Q., Lu, C., Zhang, J. and Kuang, T. (2002) Photosynthesis and chlorophyll fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. *Journal of Plant Physiology*. 159: 1173-1178.
- Madhaiyan, T., Poonguzhali, S., Sundaram, S. P. and Tongmin S. A. (2006) A new insight into foliar applied methanol influencing phylloplane mycotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 57: 168-176.
- Makhadm, 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.
- 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.
- Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005) Tolerance and physiological responses of *Phragmites australis* to water deficit. *Aquatic Botany* 81: 285-299.
- 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. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 5: 162-169.
- Rahbarian, R., Khavari-nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri A. R. and Najafi, F. (2011) Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia* 53: 47-56.
- Rajala, A., Karkkainen, J., Peltonen J. and Peltonen-Sainio P. (1998) Foliar applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C<sub>3</sub> crops. *Industrial Crop Production* 7: 129-137.
- 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., Candilo, D. 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.
- Tilahun, A. and Sven, S. (2003) Mechanisms of drought resistance in grain: PSII Stomatal regulation and root growth. *Ethiopian Journal of Science* 26: 137-144.
- Turk, M. A., Tahawa, A. R. M. and Lee K. D. (2004) Seed germination and seedling growth of three lentil cultivars under moisture. *Asian Journal of Plant Sciences* 3:395-397.

- Vyshkayy, M., Noormohammadi, Gh., Majidi, A. and Rabii, B. (2008) Effect of methanol on the growth function peanuts. Special Issue Journal of Agricultural Sciences 1: 102-87.
- 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 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.

## Evaluation of Methanol role in reducing the negative effects of water deficit stress in lentil (*Lens culinaris* Medik.)

Raheleh Ahmadpour\*, Saeed Reza Hosseinzadeh and Nezam Armand

Department of Biology, Faculty of Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

(Received: 23 February 2015, Accepted: 13 July 2015)

### Abstract:

Water deficiency is an important limiting factor for plant growth in arid environments. Foliar application of methanol in C<sub>3</sub> plants is believed to be more effective in water stress tolerance. In order to evaluate the effects of foliar application of methanol on photosynthetic features, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of lentil under water deficit stress, a factorial experiment in completely randomized design was conducted with three replications. Methanol foliar application factor had 5 levels including control (without foliar application), 5, 15, 25 and 35 volumetric percentages (v/v). Foliar application was applied 3 times during the growing season (seedling, flowering and podding) at 10-days intervals. Water deficit factors were included severe water stress (25% of field capacity), moderate water stress (75% of field capacity) and non-water stress (100% field capacity). The results of methanol and water stress interaction showed that in non-water stress condition, methanol levels at the seedling, flowering and podding stage significantly enhanced all traits except transpiration rate compared with the control level. Methanol levels at three stages significantly decreased the transpiration rate compared with the control. In moderate and severe water stress treatments at seedling stage, methanol levels had significant effect regarding photosynthetic features but at flowering and podding stages, the application of methanol, except some features did not reduce the negative effects of water stress.

**Key word:** Water deficit, Methanol, Photosynthesis, Lentil (*Lens culinaris* Medik.).

\*Corresponding author, Email: Ahmadpour@bkatu.ac.ir