

## بررسی اثر متانول بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش خشکی

سعیدرضا حسین‌زاده<sup>۱\*</sup>، منیره چنیانی<sup>۲</sup> و اعظم سلیمی<sup>۳</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران
- ۲- عضو هیئت علمی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۳- استادیار دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۴/۰۴

### چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی متانول بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، تثبیت CO<sub>2</sub>، عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی (FV/FM)، محتوای آب نسبی، CO<sub>2</sub> درون سلولی، کارایی مصرف آب و پایداری غشای سلول‌های برگ‌ی نخود (رقم کرج) در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شهریور سال ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به اجرا 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. محلول پاشی گیاهچه‌ها تا زمان جاری شدن قطره‌های محلول روی برگ ادامه یافت. عامل خشکی نیز شامل تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) و بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) اعمال شد. نتایج نشان داد بین سطوح مختلف متانول تفاوت معنی‌داری (P ≤ 0.01) از نظر میزان کلروفیل a، b، کارتنوئید، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a به b، تثبیت CO<sub>2</sub>، عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی (FV/FM)، CO<sub>2</sub> درون سلولی، محتوای آب نسبی، ضریب پایداری غشاء و کارایی مصرف آب وجود داشت. محلول پاشی با سطح ۳۰ درصد حجمی، موجب افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل، تثبیت CO<sub>2</sub>، محتوای آب نسبی و CO<sub>2</sub> درون سلولی نسبت به دیگر سطوح شد. بین سطوح مختلف متانول تفاوت معنی‌داری در پتانسیل عملکرد کوانتومی (FV/FM) وجود نداشت اما افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد. اثرات متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری بر میزان کارتنوئید و محتوای آب نسبی نداشت، اما بر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a به b، تثبیت CO<sub>2</sub>، عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی (FV/FM)، CO<sub>2</sub> درون سلولی و ضریب پایداری غشا معنی دار (P ≤ 0.05) بود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، محلول پاشی متانول، نخود (*Cicer arietinum* L.)، ویژگی‌های فیزیولوژیک

### مقدمه

کربن در گیاه شود موجب بهبود عملکرد در شرایط خشکی می‌شود (Zebic 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 اسیدهای آمینه گلیسین، گلوتامات و آسپارات می‌باشد (Nonomura et al., 1997). گیاهان می‌توانند متانول محلول پاشی شده 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 در گیاهان عالی به آسانی با اتصال به گروه‌های متیل می‌تواند تبدیل به مولکول‌هایی مثل سرین، متیونین و فسفاتیدیل کولین شود (Row et al., 1994). کاربرد خارجی متانول به طور مستقیم با فرآیندهای متابولیکی رشد و نمو گیاه در ارتباط است و همچنین با فرآیندهای مرتبط با مکانیسم‌های دفاعی از قبیل فعال شدن

تنش خشکی یکی از مشکلات عمده تولید گیاهان زراعی در ایران و جهان به شمار می‌رود و تهدید جدی برای تولید موفقیت‌آمیز 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 et al., 1998). با اینکه نخود گیاهی نسبتاً مقاوم به خشکی است اما جهت حصول عملکرد بالا اتخاذ راهکارهایی که بتواند اثر تنش خشکی را کاهش دهد، مورد توجه محققان بسیاری بوده است (Hsiao, 2000). افزایش غلظت دی اکسید کربن می‌تواند اثر ناشی از تنش خشکی را خنثی کند. بنابراین به کار بردن موادی که بتواند سبب افزایش غلظت دی اکسید

\* نویسنده مسئول: ۰۹۳۵۳۳۸۷۸۹۹، hossinzadeh\_tmu@yahoo.com

کیفیت اسیدهای چرب و پروتئین‌ها می‌تواند رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهند. خشکی از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو، یکپارچگی غشای سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Heravan *et al.*, 1994). کارایی مصرف آب می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسب جهت ارزیابی میزان تحمل گیاهان به تنش خشکی، مورد استفاده قرار گیرد. در گیاهان متحمل به تنش خشکی، عملکرد روزنه‌ای کنترل می‌شود تا عمل تثبیت کربن صورت گیرد. بنابراین کارایی مصرف آب در این گیاهان افزایش می‌یابد (Yordanov *et al.*, 2003). با توجه به موارد اشاره شده، این آزمایش با هدف بررسی تأثیر متانول بر ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود تحت شرایط تنش خشکی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی متانول روی نخود (رقم کرج) آزمایشی در شهریور ۱۳۹۰ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در آزمایش شامل تیمار محلول‌پاشی متانول در ۵ سطح: شاهد (بدون محلول‌پاشی) و ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی متانول که به هر کدام از محلول‌ها دو گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. عامل خشکی نیز شامل بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) اعمال شد. واحدهای آزمایشی در این مطالعه از گلدان‌هایی محتوی ۳ کیلوگرم خاک که دارای ۱۸ سانتیمتر قطر و ۱۵ سانتیمتر ارتفاع بود، تشکیل شد. گلدان‌ها در اتاقک رشد با درجه حرارت روز و شب به‌ترتیب ۲۵ و ۱۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. محلول‌پاشی ۳ بار طی فصل رشد گیاه و با فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. اولین محلول‌پاشی ۴ هفته پس از کاشت و محلول‌پاشی‌های بعدی به‌ترتیب در اوایل گلدهی (۴۰ روز بعد از کاشت) و اوایل غلاف دهی (۵۰ روز بعد از کاشت) انجام شد. محلول‌پاشی تا زمان جاری شدن قطره‌های محلول روی برگ ادامه یافت. اندازه‌گیری صفات، یک روز بعد از محلول‌پاشی انجام گرفت. برای سنجش میزان کلروفیل و کارتنوئید از روش (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم برگ با ۴ میلی‌لیتر 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 موج‌های ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. جهت صفر کردن دستگاه از استن ۸۰٪ استفاده شد. میزان کل کلروفیل،

ژن‌های درگیر در بیوسنتز اسید جاسمونیک نیز مرتبط است (Gout *et al.*, 2000). مهمترین فایده متانول جلوگیری و کاهش اثر تنش‌های القا شده به گیاهان زراعی در اثر انجام تنفس نوری در آن‌ها می‌باشد (Nonomura *et al.*, 1992). به‌منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی از تکنیکی به نام سنجش فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. در واقع میزان فلورسانس کلروفیل تابعی از فعالیت فتوسنتزی برگ می‌باشد که می‌تواند در تشخیص مدت تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار گیرد (Lichtenthaler *et al.*, 1992). از فلورسانس کلروفیل در برنامه‌های اصلاحی مربوط به بهبود تحمل به سرما در ذرت و برنج (Wilson *et al.*, 1993) و همچنین مقاومت به گرما در آفتابگردان (Wilson *et al.*, 1993) و تحمل به تنش خشکی در سیب زمینی (Ranalli *et al.*, 1997) استفاده شده است. در یک آزمایش، کاربرد متانول باعث کاهش فعالیت فتوسیستم I و II در ۲۰ ساعت اولیه محلول‌پاشی شده است که این موضوع منجر به جذب کمتر نور و حفظ سیستم فتوسنتزی شده است (Khafagi *et al.*, 1997). کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی و حفظ غلظت کلروفیل تحت این شرایط به ثبات فتوسنتز کمک می‌کند (Castillo *et al.*, 1994). در آزمایش دیگری محلول‌پاشی متانول باعث افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید در برگ چغندر قند در شرایط تنش خشکی شد (Khafagi *et al.*, 1997). در تحقیقی دیگر افزایش کلروفیل بعد از محلول‌پاشی با متانول در برگ گندم، یولاف و مو مشاهده شد (Ramadant & Omran, 2005).

یکی از مهمترین تغییرات ناشی از تنش خشکی کاهش محتوای آب نسبی برگ (RWC) می‌باشد. این ویژگی می‌تواند توانمندی گیاه را در تحمل به تنش خشکی نشان دهد. کاهش محتوای آب نسبی و بسته شدن روزنه‌ها اولین تأثیر تنش خشکی بوده که از طریق اختلال در ساخت مواد فتوسنتزی موجب کاهش میزان عملکرد می‌شود (Anonymous, 1993). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد محلول‌پاشی متانول سبب کاهش نیاز آبی گیاهان در شرایط گرم می‌شود. متابولیسم متانول منجر به افزایش قندسازی در برگ‌ها می‌شود که این موضوع سبب افزایش فشار آماس و افزایش سرعت آسیمیلایسیون و رشد در گیاهان تیمار شده با آن شده است (Safarzade Vishkaei, 2007). افزایش محتوای آب نسبی و تورژسانس در بادام زمینی در واکنش به محلول‌پاشی متانول نیز گزارش شده است (Safarzade Vishkaei, 2007). تنش‌های محیطی با تغییر ساختمان غشاء از نظر کمیت و

با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $P \leq 0.05$ ) مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

#### تأثیر محلول پاشی متانول بر ویژگی‌های فیزیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر میزان کلروفیل a و محتوای کلروفیل کل داشت (جدول ۱). Fangmeir *et al.* (2001) گزارش کردند با کاهش آب قابل استفاده برای گیاهان و به تبع آن بروز تنش خشکی، میزان کلروفیل a و b در بافت سبز برگ کاهش می‌یابد. نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که متانول تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل داشت (جدول ۱). نتایج حاصله حاکی از آن است که ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را بر میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل داشت، که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی متانول اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین میزان متغیرهای ذکر شده متعلق به شاهد بود (جدول ۳).

Nonomura *et al.* (1992) گزارش کردند که محلول پاشی متانول سبب افزایش پتانسیل تورگر شده و علت آن دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ می‌باشد که منجر به افزایش میزان آب قابل دسترس برای گیاه می‌شود. از طرفی ثابت شده است که در شرایط تنش خشکی جذب منیزیم و احتمالاً آهن کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش میزان سنتز کلروفیل می‌باشد (Keles & Onsel, 2004). احتمالاً متانول در افزایش طول، سطح ریشه و در جذب عناصر غذایی به‌ویژه منیزیم و آهن از خاک مؤثر واقع شده است. Paknejad *et al.* (2007) افزایش بیوماس ریشه در سطح ۳۰ درصد متانول را گزارش کردند. در مطالعه دیگری که روی نخود صورت گرفت افزایش بیوماس ریشه در سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد متانول مشاهده شد (Hosseinzadeh *et al.*, 2012). در مطالعاتی که روی گوجه فرنگی و فلفل انجام شد، محلول پاشی متانول به‌همراه گلیسین، مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش داد (Row *et al.*, 1994). مطالعات Rajala *et al.* (1998) نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول پاشی متانول نشان داد. گزارش‌های Fangmeir *et al.* (2001) نشان داد که کاهش میزان کلروفیل a در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS) می‌باشد که موجب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شود.

کلروفیل a، b و کارتنوئید از طریق معادله‌های (۱) تا (۴) محاسبه گردید:

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

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

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

$$\text{ChIT} = \text{Chla} + \text{Chlb} \quad \text{معادله (۴)}$$

به‌منظور 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 غوطه‌ور شدند. سپس برگ‌ها از آب خارج و سطح آن‌ها با دستمال کاغذی خشک شد و مجدداً وزن آن‌ها اندازه‌گیری گردید. در مرحله بعد، برگ‌ها در آون ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن آن‌ها نیز محاسبه شد. محتوای آب نسبی با استفاده از معادله (۵) محاسبه شد:

$$\text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100 \quad \text{معادله (۵)}$$

در این معادله، RWC محتوای آب نسبی، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژانس کامل است (Bian & 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 میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شدند. یک گروه از لوله‌ها، به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۴۰ درجه سانتیگراد و گروه دیگر لوله‌ها، به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از کاهش دمای لوله‌ها تا حد دمای محیط، هدایت الکتریکی نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه EC meter (مدل Jenway) اندازه‌گیری و سپس شاخص پایداری غشاء از رابطه زیر مطابق روش (Sairam *et al.*, 2001) به‌دست آمد:

$$\text{هدایت الکتریکی آب در دمای } 100^\circ\text{C} / \text{هدایت الکتریکی آب در دمای } 40^\circ\text{C} - 1 = \text{شاخص پایداری غشاء}$$

اندازه‌گیری میزان پتانسیل عملکرد کوانتومی فتوسیستم II به‌وسیله دستگاه فلوریمتر (PAM-2000, WALTZ) تعیین شد. اندازه‌گیری میزان تثبیت  $\text{CO}_2$ ، تعرق و غلظت  $\text{CO}_2$  درون سلولی پس از محلول پاشی سوم به‌وسیله دستگاه اندازه‌گیری میزان فتوسنتز LC4 ساخت شرکت ADC انجام شد. همه اندازه‌گیری‌ها از برگ‌های میانی صورت گرفت. کارایی مصرف آب، از طریق نسبت میزان تثبیت  $\text{CO}_2$  به میزان تعرق محاسبه شد (Ahmed, 2002). داده‌ها پس از جمع‌آوری توسط نرم افزار Mstat-C تجزیه واریانس شدند و میانگین‌ها

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه نخود  
Table1. Analysis of variance of physiologic characteristics of chickpea

کارتنوئید Carotenoids (mg/g LFW)	نسبت کلروفیل a/b Chlorophyll a/b (mg/g LFW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g LFW)	کلروفیل b Chlorophyll b (LFW mg/g)	کلروفیل a Chlorophyll a (LFW mg/g)	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییر S.O.V
Mean Square			میانگین مربعات			
0.205*	0.519**	7.639**	0.658**	3.993**	4	Methanol متانول
0.687*	0.023 <sup>ns</sup>	4.589 **	0.139 <sup>ns</sup>	3.249**	1	Stress تنش
0.090 <sup>ns</sup>	0.051*	0.355*	0.015*	0.283*	4	M×S متانول×تنش
0.079	0.054	0.091	0.035	0.070	20	Error خطای آزمایش
6.46	6.27	2.18	6.32	2.44	-	C.V ضریب تغییرات (/)

ns: Non-significant, \*\*and \*: significant at  $P \leq 0.01$  &  $P \leq 0.05$       ns, \*\*, \* به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه نخود  
Table2. Analysis of variance of physiologic characteristics of chickpea

کارایی استفاده از آب Water use efficiency (Kg mm <sup>-1</sup> ha <sup>-1</sup> )	CO <sub>2</sub> درون سلولی Intracellular CO <sub>2</sub> (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	آسیمیلاسیون CO <sub>2</sub> assimilation (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	پایداری غشاء (μs) Cell membran e stability	محتوای آب نسبی (%) Relative water content	عملکرد کوانتوم فتوشیمیایی F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییر S.O.V
Mean Square			میانگین مربعات				
572.40 **	3153.666 **	206.021**	0.029**	226.78**	0.031**	4	Methanol متانول
837.62 **	28973.398 **	182.987 **	0.055**	240.83**	0.029 *	1	Stress تنش
80.014 **	531.277 **	14.411 **	0.013 *	1.97 <sup>ns</sup>	0.0296**	4	M×S متانول×تنش
6.789	70.709	0.734	0.002	5.567	0.0056	20	Error خطای آزمایش
13.56	1.43	5.50	7.88	3.19	0.81	-	C.V ضریب تغییرات (/)

ns: Non-significant, \*\*and \*: significant at  $P \leq 0.01$  &  $P \leq 0.05$       ns, \*\*, \* به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

معنی‌داری نداشت و کمترین میزان آن به سطح شاهد تعلق داشت (جدول ۳). کلروفیل‌ها نسبت به اکسیداسیون و بازدارندگی نوری حساس بوده در حالی که نقش کارتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان و حفاظت‌کننده از کلروفیل‌ها مطرح است (Ramadant & Omran, 2005). مشخص شده است که کارتنوئیدها نسبت به کلروفیل‌ها پایدارترند (Timan *et al.*, 1980). مقدار کلروفیل هیچگاه بالاتر از آن مقداری که توسط کارتنوئید محافظت می‌شود افزایش پیدا نخواهد کرد

احتمالاً متانول از طریق جذب آهن که به‌عنوان گروه پروستتیک هموپروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است می‌تواند در نابودی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه نقش داشته باشد. نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متانول بر میزان کارتنوئید معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) می‌باشد. بیشترین میزان کارتنوئید در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود، که با سطوح ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی متانول اختلاف

انگور و لوبیا انجام شد، نشان داد محلول‌پاشی متانول میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ‌ها را افزایش داد (Ramadant & Omran, 2005).

(Robertson *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 روی

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک گیاه نخود تحت تأثیر سطوح مختلف متانول

Table3. Comparison of physiologic characteristics of chickpea under different levels of methanol

کارتنوئید Carotenoids (mg/g LFW)	نسبت کلروفیل a/b Chlorophyll a/b (mg/g LFW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g LFW)	کلروفیل b Chlorophyll b (LFW mg/g)	کلروفیل a Chlorophyll a (LFW mg/g)	تیمارها Treatments
					متانول
3.680 c	3.723 b	12.48 d	2.643 c	9.84 d	شاهد
4.203 b	3.620 b	13.31 c	2.885 b	10.43 c	۲۰٪ حجمی
4.422 a	3.468 b	14.31 b	3.250 a	11.09 b	۲۵٪ حجمی
4.497 a	3.487 b	15.47 a	3.367 a	12.03 a	۳۰٪ حجمی
4.325 ab	4.190 a	13.53 c	2.672 c	10.92 b	۳۵٪ حجمی

فتوسنتزی محافظت نماید. بین سطوح مختلف متانول نیز در محتوای آب نسبی اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) مشاهده شد. در این ارتباط سطوح مختلف متانول همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند. با این حال بیشترین میزان محتوای آب نسبی متعلق به سطوح ۲۵ و ۳۰ درصد حجمی متانول بود که به نسبت شاهد افزایش ۱۵ درصدی داشت (جدول ۴). متانول پس از محلول‌پاشی متابولیزه شده و با افزایش میزان دی‌اکسید کربن درون برگ‌ها سبب افزایش میزان آماس و تولید کربوهیدرات در برگ‌ها می‌شود (Row *et al.*, 1994). طبق گزارش‌های Nonomura *et al.* (1992) محلول‌پاشی متانول در گیاهانی که در معرض تنش خشکی هستند سبب افزایش پتانسیل آب و محتوای آب نسبی می‌شود. این محققان علت افزایش محتوای آب نسبی را در گیاهان تیمار شده با متانول، دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ گیاهان دانستند.

نتایج نشان داد اثر محلول‌پاشی متانول بر ضریب پایداری غشاء سلول‌های برگ معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۲). بیشترین میزان پایداری غشاء مربوط به سطح ۲۵ درصدی متانول بود که با سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین میزان آن نیز مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود (جدول ۴). این کاهش را می‌توان به اثرات سمی متانول در غلظت‌های بالا نسبت داد. نتایج تجزیه

نتایج نشان داد که سطوح مختلف متانول، تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر نسبت کلروفیل a به b داشت (جدول ۱). بیشترین میزان این نسبت مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود و کمترین آن مربوط به سطح شاهد بود که با سایر سطوح اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳). افزایش این نسبت را می‌توان با افزایش میزان کلروفیل a در سطوح ۳۰ و ۳۵ درصد حجمی متانول (طبق موارد فوق) مرتبط دانست. متانول تأثیر بسیار معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر عملکرد کوانتومی (FV/FM) داشت (جدول ۲). غلظت‌های مختلف متانول اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی تفاوت آن‌ها با شاهد معنی‌دار بود (جدول ۴). شیب کاهش عملکرد کوانتوم (FV/FM) شاخص خوبی است جهت ارزیابی ممانعت نوری در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی نظیر خشکی و گرما همراه با میزان تشعشع زیاد قرار می‌گیرند (Nordenkamp *et al.*, 1991). افزایش عملکرد کوانتوم (FV/FM) دلیلی است بر اینکه تنش‌های محیطی بر کارایی فتوسنتز تأثیر دارد (Paknejad *et al.*, 2007). گزارش‌های Nonomura *et al.* (1992) نیز نشان داد محلول‌پاشی متانول در گیاهان سه کربنه سبب مقاومت به تنش‌های محیطی می‌شود. پس می‌توان گفت احتمالاً متانول سبب افزایش حفاظت نوری در گیاه شده و توانسته است با خاصیت ضد تنشی خود گیاه را از صدمات وارده به دستگاه

CO<sub>2</sub> درون سلولی کاهش پیدا کرد که احتمالاً به دلیل اثر سمی متانول در غلظت‌های بالای مصرف آن بوده است (جدول ۴). (Hemming *et al.* (1995). نیز بیان کردند متانول تأثیر مثبتی بر آسیمیلایون CO<sub>2</sub> دارد. این نتایج با نتایج سایر محققان (Obendorf *et al.*, 1990; Hosseinzadeh *et al.*, 2011) مطابقت دارد.

نتایج نشان داد اثر محلول‌پاشی متانول بر کارایی مصرف آب معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود. بیشترین میزان کارایی مصرف آب مربوط به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول و کمترین آن به سطح شاهد اختصاص داشت (جدول ۴). علت افزایش کارایی مصرف آب را می‌توان با افزایش میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> از طریق محلول‌پاشی متانول مرتبط دانست. (Makhdom *et al.* (2002). بیشترین میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> را در سطح ۲۵ و ۳۰ درصد متانول گزارش کردند.

واریانس مشاهدات نشان داد که اثر تنش خشکی بر ضریب پایداری غشاء سلول‌های برگ معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۲). کاهش ضریب پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی در زیتون و *Medicago truncatula* گزارش شده است (Bayoumi *et al.*, 2008).

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که اثر تیمارهای مختلف متانول بر میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> و غلظت CO<sub>2</sub> درون سلولی معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> و غلظت CO<sub>2</sub> درون سلولی در سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود که با سطوح ۲۰ و ۲۵ درصد حجمی متانول اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۴). سطح شاهد (بدون محلول‌پاشی) کمترین میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> و غلظت CO<sub>2</sub> درون سلولی را دارا بود. با افزایش مقدار متانول از ۳۰ به ۳۵ درصد حجمی، میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> و غلظت

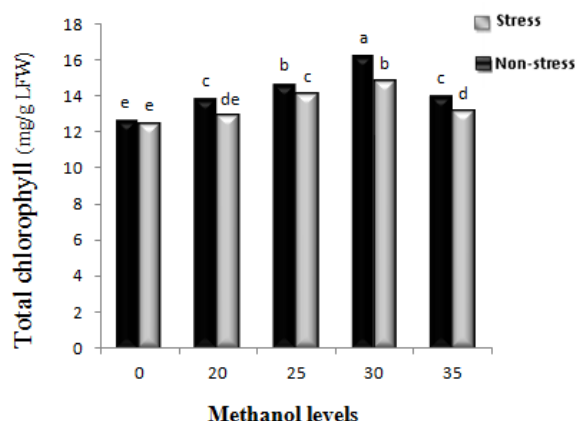
جدول ۴- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک گیاه نخود تحت تأثیر سطوح مختلف متانول

Table 4. Comparison of physiologic characteristics of chickpea under different levels of methanol

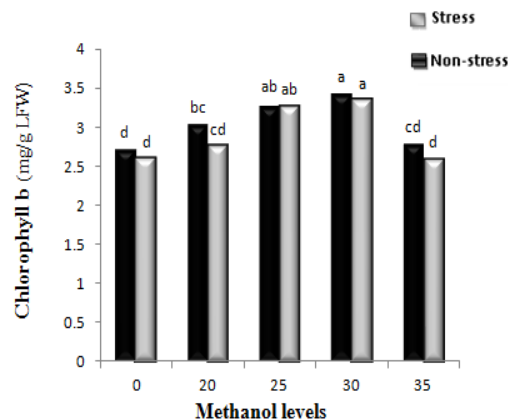
کارایی استفاده از آب Water use efficiency (Kg mm <sup>-1</sup> ha <sup>-1</sup> )	CO <sub>2</sub> درون سلولی Intracellular CO <sub>2</sub> ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	آسیمیلایون CO <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> assimilation ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	پایداری غشاء (μs) Cell membrane stability	محتوای آب نسبی Relative water content (%)	عملکرد کوانتوم فتوشیمیایی Fv/Fm	تیمارها Treatments
						متانول
10.02 d	560.3 c	9.07 e	0.483 b	0.631 b	0.796 b	شاهد
16.82 c	592.6 b	12.55 d	0.571 a	0.753 a	0.937 a	۲۰٪ حجمی
20.90 c	592.1 b	17.04 b	0.573 a	0.780 a	0.951 a	۲۵٪ حجمی
29.13 a	620.7 a	24.67 a	0.523 ab	0.768 a	0.978 a	۳۰٪ حجمی
24.17 b	573 c	14.59 c	0.405 c	0.768 a	0.942 a	۳۵٪ حجمی

۳). تحت شرایط تنش، محتوای کلروفیل افزایش یافت. احتمالاً علت این افزایش به کوچک شدن سلول‌های برگ (به‌علت کاهش سطح برگ) و افزایش تراکم کلروفیل (Paknejad *et al.*, 2007) و همچنین افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) مربوط می‌باشد (Fangmeir *et al.*, 2007).

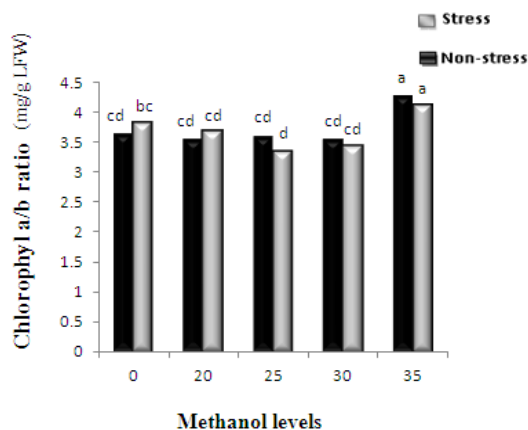
اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر مؤلفه‌های فیزیولوژیک نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان کارتنوئید و محتوای آب نسبی نداشت، اما بر میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل، معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود (جدول ۱). بیشترین میزان کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول بود و کمترین آن به تیمار شاهد هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی اختصاص داشت (شکل‌های ۱ تا



شکل ۳- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل  
**Fig. 3. The effect of methanol and drought stress Intraction on total chlorophyll content**



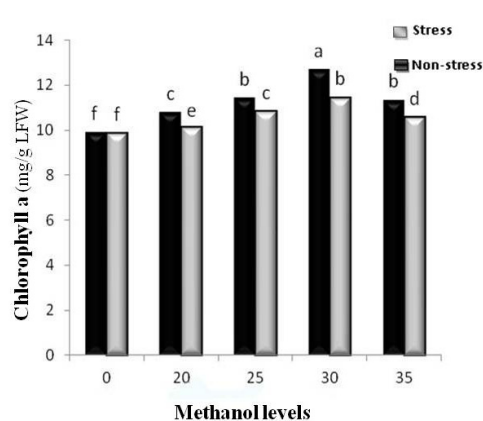
شکل ۱- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل a  
**Fig. 1. The effect of methanol and drought stress Intraction on chlorophyll a content**



شکل ۴- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر نسبت کلروفیل a به b  
**Fig. 4. The effect of methanol and drought stress Intraction on chlorophyll a/b**

\* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

The columns that have letters in common are not significantly different at  $P \leq 0.05$  according to Duncan test.



شکل ۲- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان کلروفیل b  
**Fig. 2. The effect of methanol and drought stress Intraction on chlorophyll b content**

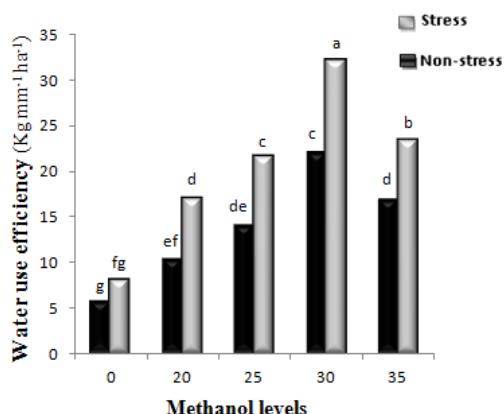
\* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

The columns that have letters in common are not significantly different at  $P \leq 0.05$  according to Duncan test.

نابودی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) در گیاه نقش داشته باشد. Ramadant & omran (2005) گزارش کردند که در برگ گندم، یولاف و مو مقدار کلروفیل بعد از محلول‌پاشی با متانول در شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌داری یافته است.

اثر متقابل تنش خشکی و متانول بر نسبت کلروفیل a به b معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود. بیشترین میزان این نسبت از سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در هر دو تیمار تنش و بدون تنش به‌دست آمد و کمترین میزان آن در سطح ۲۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش خشکی مشاهده شد اگرچه

رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شوند (Fangmeir *et al.*, 2007). از طرفی ثابت شده‌است که در شرایط تنش خشکی کاهش جذب منیزیم و احتمالاً آهن رخ می‌دهد که میزان سنتز کلروفیل را کاهش می‌دهد (Keles & Onsel, 2004). به‌نظر می‌رسد متانول از طریق جذب آهن که به‌عنوان گروه پروستتیک هموپروتئین‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است (Keles & Onsel, 2004) می‌تواند در



شکل ۶- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر راندمان مصرف آب  
**Fig. 6. The effect of methanol and drought stress Intraction on water efficiency**

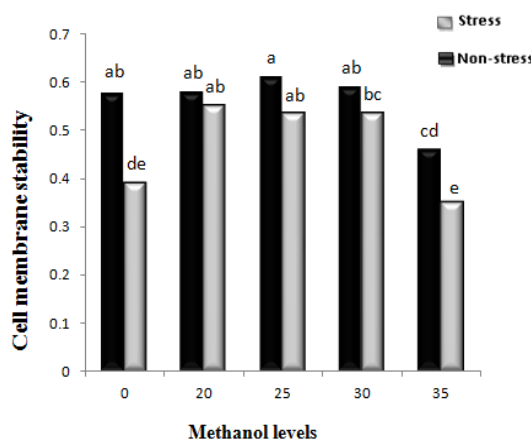
\* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).  
 The columns that have letters in common are not significantly different at  $P \leq 0.05$  according to Duncan test.

برهمکنش متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر کارایی مصرف آب داشت. بیشترین میزان در سطح ۳۰ درصد حجمی در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مشاهده شد که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت و کمترین میزان مربوط به سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی بود (شکل ۶). متانول با افزایش آسیمیلاسیون  $CO_2$  در گیاه باعث افزایش کارایی مصرف آب نسبت به سطح شاهد شده است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مصرف متانول در اغلب گیاهان زراعی موجب افزایش کارایی مصرف آب، کاهش تنفس نوری و درنهایت باعث افزایش عملکرد می‌شود (Rowe et al., 1994).

اثر متقابل متانول و تنش بر عملکرد کوانتوم ( $Fv/Fm$ ) معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود. نتایج نشان می‌دهد که از نظر عملکرد کوانتوم، 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 ۷). همان‌طور که گفته شد افزایش پتانسیل عملکرد کوانتوم ( $Fv/Fm$ ) دلیلی است که تنش‌های محیطی بر کارایی فتوسنتز تأثیر دارند (Paknejad et al., 2007). سرعت پذیرنده‌های الکترونی در فتوسیستم II در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد سبب کاهش پتانسیل عملکرد کوانتوم ( $Fv/Fm$ ) می‌شود (Anonymous et al., 1993). با توجه به شکل ۷ تیمارهای تنش و بدون تنش در سطوح مختلف متانول تفاوت معنی‌داری ندارند اما با افزایش مقدار متانول مصرفی عملکرد

اختلاف آن با غالب سطوح تیماری متانول و تنش معنی‌دار نبود (شکل ۴).

برهمکنش متانول و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بر پایداری غشاء سلول‌های برگ داشت. بیشترین میزان پایداری غشاء در تیمار بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۲۵ درصدی متانول بود. بیشترین میزان پایداری غشاء متعلق به سطح ۲۵ درصدی متانول در تیمار بدون تنش خشکی بود که با سطح حجمی ۲۵ و ۳۰ و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان پایداری غشاء هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی مربوط به سطح ۳۵ درصد حجمی متانول بود (شکل ۵). تنش خشکی از طریق افزایش تولید مواد تخریب‌کننده غشاء از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تخریب غشاء سلولی شده و در نتیجه ضریب پایداری غشاء کاهش می‌یابد. گیاهان متحمل به تنش خشکی مکانیسم‌هایی برای مقابله با تخریب غشاء دارند که یکی از این مکانیسم‌ها تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز است (Jinmiin & Hang, 2001).

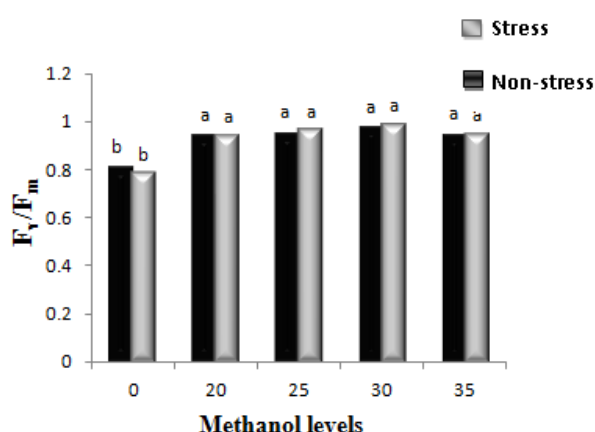


شکل ۵- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر میزان پایداری غشاء سلول

**Fig. 5. The effect of methanol and drought stress Intraction on cell membrane stability**

افزایش میزان پایداری غشاء با محلول‌پاشی متانول اشاره به خواص ضد تنشی متانول دارد که به نظر می‌رسد با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز باعث تجزیه مواد تخریب‌کننده غشاء از جمله پراکسید هیدروژن می‌شود (Jinmiin & Hang, 2001). کاهش ضریب پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی در گیاهان دیگر از جمله گندم و زیتون نیز گزارش شده است (Guerfel et al., 2008).

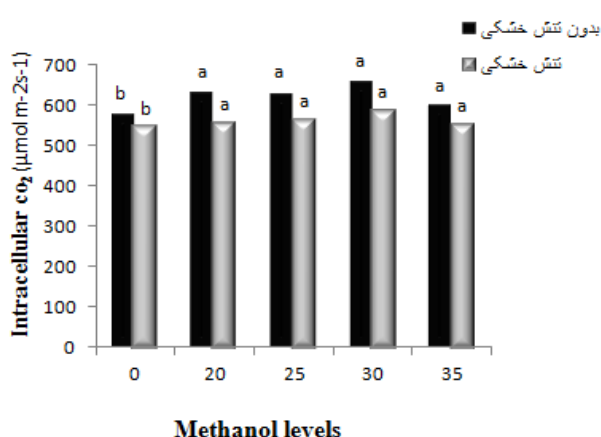




شکل ۸- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر آسیمیلاسیون CO<sub>2</sub>  
**Fig. 8. The effect of methanol and drought stress Intraction on CO<sub>2</sub> assimilation**

\* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

The columns that have letters in common are not significantly different at  $P \leq 0.05$  according to Duncan test.



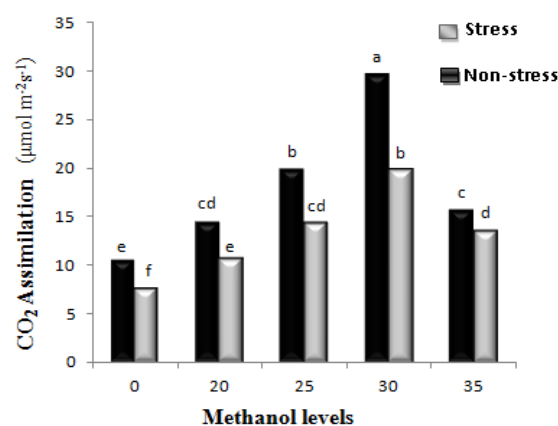
شکل ۹- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر CO<sub>2</sub> درون سلولی  
**Fig. 9. The effect of methanol and drought stress Intraction on intracellular CO<sub>2</sub>**

\* ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند (در سطح احتمال ۵ درصد).

The columns that have letters in common are not significantly different at  $P \leq 0.05$  according to duncan test.

متانول بعد از محلول‌پاشی از طریق آنزیم متانول اکسیداز تبدیل به فرمالدهید و سپس تبدیل به فرمات (متانوتیک اسید) می‌شود. فرمات در مرحله بعد توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به دی‌اکسید کربن شده و باعث افزایش CO<sub>2</sub> درون سلولی در گیاه می‌شود (Nonomura *et al.*, 1992).

کوانتومی (Fv/Fm) تیمارهای تنش و بدون تنش افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش حفاظت نوری گیاه توسط متانول است (Nonomura *et al.*, 1991). اثرات متقابل تنش خشکی و متانول تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر میزان تثبیت CO<sub>2</sub> داشت.



شکل ۷- اثر متقابل متانول و تنش خشکی بر عملکرد کوانتوم فتوشیمیایی  
**Fig. 7. The effect of methanol and drought stress Intraction on Fv/F<sub>M</sub>**

نتایج بررسی‌ها نشان داد که بیشترین میزان تثبیت CO<sub>2</sub> در سطح ۳۰ درصد متانول هم در شرایط تنش و هم بدون تنش خشکی مشاهده شد و کمترین میزان تثبیت CO<sub>2</sub> به تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی متانول) تعلق داشت (شکل ۸). Zebic *et al.* (1992) گزارش کردند که محلول‌پاشی متانول باعث افزایش غلظت CO<sub>2</sub> شده که می‌تواند میزان تثبیت CO<sub>2</sub> را در گیاه افزایش دهد. گیاهان می‌توانند متانول محلول‌پاشی شده روی برگ‌ها را به‌راحتی جذب و آن را به‌عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند. متانول در مقایسه با CO<sub>2</sub>، مولکول نسبتاً کوچکتری است که به‌راحتی توسط گیاهان، جذب شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gout *et al.*, 2000; Downie *et al.*, 2004). اثر متقابل متانول و تنش بر میزان CO<sub>2</sub> درون سلولی معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود. بیشترین میزان CO<sub>2</sub> درون سلولی به سطح ۳۰ درصد حجمی متانول اختصاص داشت که با دیگر سطوح متانول اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان آن به سطح شاهد در هر دو تیمار تنش و بدون تنش خشکی مربوط بود که نسبت به سطوح متانول کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۹).

## سپاسگزاری

پروژه تشکر و قدردانی نماییم. همچنین از سرکار خانم احمدپور و جناب آقای بیک خورمیزی برای مساعدت‌های بی‌دریغشان در انجام این پروژه کمال تشکر را داریم.

بجا و شایسته است از دانشگاه تربیت معلم تهران به‌منظور پشتیبانی‌های مالی و از مسئولان محترم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به‌دلیل مساعدت در اجرای این

## منابع

1. Anonymous, A. 1993. An introduction to Fluorescence Measurements with the Plant Efficiency Analyzer. Hansatech instruments Ltd., England.
2. Bagheri, A., Nezami, A., Ganjeali, A., and Parsa, M. 1997. Agronomy and breeding chickpea. Publications Jahad University of Mashhad. (In Persian).
3. Boyer, J.S., Armand, P.A. and 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.
4. Clover, G., Smith, H., and Jaggard, K. 1998. The Crop under Stress. British Sugar Beet Review 66 (3): 17-19.
5. 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.
6. Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A.R., Benson, A. and Douce, R. 2000 plant Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Plant Physiol.* 123: 287-296.
7. 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.
8. Holland, M.A. 1997. Occams razor applied to hormonology. Are cytokinins produced by plants? *Plant Physiol.* 115: 865-868.
9. 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: 140-150.
10. 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 (5):1697-1702.
11. Hsiao, T.C. 2000. Leaf and root growth in relation to water status. *Horticultural Science* 35: 1051-1058.
12. 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.
13. 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.
14. Lu, Q., Lu, C., Zhang, J. and Kuang, T. 2002. Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. *J Plant Physiol* 159: 1173-1178.
15. Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Sundaram, S.P., and Sa, T.A . 2006. New insight into foliar applied methanol influencing phylloplane methylotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 57: 168-176.
16. Makhdam, I.M., Nawaz, A. Shabab, M., Ahmad, F., and Illahi, F. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. *Journal of Research (Science)*, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan 13: 37-43.
17. 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 (20): 1763-1769.
18. Nemecek-Marshall, M., MacDonald, R.C., Franzen, J.J., Wojciechowski, C.L., and Fall, R. 1995. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance & leaf development. *Plant Physiol* 108: 1359-1368.

19. Nonomura, A.M. 1997. Method and composition for enhancing carbon fixation in plants. Proc Natl Acad Sci, U.S.A. 89: 9794-9798.
20. Nonomura, A.M., and Benson, A.A. 1992. The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yields with methanol. Proc. National Acad. Sci., USA, 89: 9794-9798.
21. Ober, E. 2001. The Search for Drought Tolerance in Sugar Beet. British Sugar Beet Review 69 (1): 40-43.
22. Paknejad, F., Majidi heravan, E., Noor mohammadi, Q., Siyadat, A., and Vazan, S. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content & grain yield of wheat cultivars. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5 (4): 162-169.
23. Parsa, M., and Bagheri, A. 2008. Legumes. Mashhad University Jahad Press. (In Persian).
24. 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.
25. 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.
26. Ranalli, P., Di Candilo, M. and Bagatta, M. 1997. Drought Tolerance Screening for Potato Improvement. Plant Breeding 116: 290-292.
27. 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.
28. 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 Persian).
29. 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. (In Persian with English Summary).
30. Wilson, J.M. and Greaves, J.A. 1993. Development of and water stress in crop plants. In: Adaptation of food crops to temperature and water stress, AVRDC, Shanhua, Taiwan, pp: 389-398.
31. Zbiec, I.I., Karczmarczyk, S. and Koszanski, Z. 1999. Influence of methanol on some cultivated plants. Department of Plant Production and Irrigation. Agricultural University of Szczecin Poland 73: 217-220.
32. 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):1-7.

## Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress

Hosseinzadeh<sup>1\*</sup>, S.R., Cheniany<sup>2</sup>, M. & Salimi<sup>3</sup>, A.

1. Young Researchers Club, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

2. Contribution from Biology Department, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3. Biology Department, Faculty of Science, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

Received: 7 January 2012  
Accepted: 24 June 2012

### Abstract

In order to evaluate the effects of foliar application of methanol on some physiological characteristics of chickpea under drought stress, an experiment was conducted as a factorial based on completely randomized design with three replications in 2011 at the Research center of plant for Sciences in Ferdowsi University of Mashhad. The first factor was different levels of methanol including, 0 (control), 20, 25, 30, 35 volumetric percentage (v/v), which were used as foliar applications at three times during growth season of chickpea, with 10 days intervals. Second factor was drought stress condition in two levels 25 and 100 percent of field capacity. Results showed that there was significant difference ( $P \leq 0.01$ ) between methanol levels concentrations regarding to chlorophyll a, b, carotenoid, total chlorophyll content, assimilation  $CO_2$ , relative water content, chlorophyll fluorescence ( $F_v/F_m$ ) and membrane stability coefficient. Spraying with 30% volume level significantly increased chlorophyll a and b content, assimilation  $CO_2$  and relative water content compared to control. There was no significant difference on chlorophyll fluorescence ( $F_v/F_m$ ) between methanol levels, but there was significant increase compared to control. Effects of drought and methanol were not significant differences on carotenoid and relative water content but on the chlorophyll a, b, total chlorophyll content, chlorophyll a/b ratio,  $CO_2$  assimilation, chlorophyll fluorescence ( $F_v/F_m$ ), intercellular  $CO_2$  and membrane stability coefficient were significant ( $P \leq 0.05$ ).

**Key word:** Methanol spraying, Physiologic characteristics, Drought stress, Chickpea (*Cicer arietinum* L.)

---

\* Corresponding Author: hossinzadeh\_tmu@yahoo.com, Mobile: 09353387899