نشریه علمی زراعت و اصلاح نباتات ایران
جلد ۱۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸، صفحات ٦١-٤٥

ISSN NO: 2008-8485

بررسی تاثیر محلول پاشی متانول بر برخی صفات فیزیولوژیکی لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) در شرایط تنش کم آبی

The effect of methanol foliar application on some physiological traits of cowpea bean (*Vigna unguiculata* L.) under drought stress conditions

علی اکبر صانعی نژاد[1*]، محمود توحیدی[2]، بهنام حبیبی خانیانی[3]، مهدی صادقی[4]، محمد خرمیان[5]

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۱۱

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی متانول بر صفات فیزیولوژیکی لوبیا چشم‌بلبلی در شرایط تنش کم‌آبی آزمایشی به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی دو سال زراعی ۱۳۹٦ و ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد دزفول به اجرا در آمد. تنش کم‌آبی در کرت‌های اصلی شامل چهار سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه)، تیمار محلول‌پاشی متانول شامل ۳ سطح (شاهد، ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی) و عامل ژنوتیپ در دو سطح شامل رقم امیدبخش ۱۰۵۷ و رقم مشهد در کرت‌های فرعی بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، برهمکنش تنش کم آبی و محلول‌پاشی بر میزان نشت یونی، کلروفیل a، کارتنوئیدها، کربوهیدرات های محلول برگ و پرولین دانه در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد کمترین میزان نشت یونی تحت برهمکنش تیمارهای تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۱۰ درصد حجمی متانول (۲۳/۲۵ میکروموس بر سانتی متر) و بیشترین میزان نشت یونی تحت برهمکنش تیمارهای تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و عدم محلول‌پاشی متانول (٤۲/۲۵ میکروموس بر سانتی متر) بود. بیشترین میزان کلروفیل a در لاین ۱۰۵۷ تحت برهمکنش تیمارهای تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول (۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. بیشترین غلظت کاروتنوئید در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی (۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین میزان کربوهیدرات محلول تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول (۵۰/۸۳ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. با توجه به یافته ها ی تحقیق کمترین میزان پرولین نیز در رقم مشهد تحت تنش ۷۵ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۱۰ درصد حجمی (۰/۰۷۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین میزان پرولین دانه نیز در رقم مشهد تحت تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و عدم محلول پاشی متانول (۰/۱۷۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود.

واژه های کلیدی: تنش کم آبی، پرولین، کاروتنوئید ها، کلروفیل، محلول پاشی متانول، نشت یونی.

مقدمه

لوبیا چشم‌بلبلی یکی از مهم‌ترین لگوم‌های دانه‌ای چندمنظوره است. دانه این گیاه دارای ۲۵-۲۰ درصد پروتئین و مقادیر مناسبی کربوهیدرات، چربی، مواد معدنی و ویتامین‌ها است (Koocheki & Banayan aval, 2009). در آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین بیش از ۱۰ میلیون هکتار از اراضی، زیر

۱- دانشجوی دکتری گروه زراعت، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.
۲ -استادیار گروه زراعت، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.
۳ -استادیار گروه زراعت، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.
۴ – استادیار گروه زراعت، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.
۵ – استادیار بخش فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران.
* مسئول مکاتبات: ali.saneinejad@gmail.com.

کشت این گیاه قرار دارند که سالانه حدود ۵ میلیون تن دانه تولید می‌کنند (Boukar *et al.*, 2019). این گیاه در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا با میزان بارش متغیر سالانه ۳۰۰-۶۰۰ میلی‌متر رشد می‌کند (Davoodi *et al.*, 2018). لوبیا چشم‌بلبلی نسبت به بسیاری از محصولات، سازگاری بهتری به خشکی، گرما و تنش‌های زیستی دارد. بااین‌حال، برخی از ارقام این گیاه به خشکی شدید و گرما به‌ویژه در مرحله زایشی حساس بوده به‌طوری‌که عملکرد و تولید آن‌ها در این شرایط به‌شدت کاهش می‌یابد (Silva *et al.*, 2016).

در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری تنش خشکی یکی از مشکلات عمده تولید گیاهان زراعی به شمار می‌رود و تهدید جدی برای تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی در سراسر جهان است (Ober, 2001). تنش خشکی علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت های ثانویه می‌شود (Sharma *et al.*, 2012). مطالعات پیشین حاکی از افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تحت تنش خشکی گزارش شده است (Lee *et al.*, 2012؛ Kaur & Asthir, 2017). گیاهان از طریق سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده را کاهش می‌دهند (Puthur, 2016). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول موجب آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین و اسیدهای نوکلوئیک می‌شود (Dar *et al.*, 2017). در وضعیت خشکی به دلیل محدود شدن جذب و تثبیت CO_2 و افزایش فعالیت اکسیژنازی آنزیم روبیسکو، تنفس نوری افزایش می‌یابد که این امر نیز می‌توان افزایش تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را به همراه داشته باشد (Miller *et al.*, 2010). در طی فتوسنتز تحت وضعیت کم‌آبی، نشت بالای الکترون به سمت O_2 اتفاق می‌افتد و انواع مختلف ROS نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن تولید می‌کند (Dawood & Azooz, 2019). گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند (Trchounian *et al*,. 2016). برخی محققین بر این عقیده‌اند که افزایش غلظت دی‌اکسید کربن می‌تواند اثر ناشی از تنش خشکی را خنثی کند؛ بنابراین به کار بردن موادی که بتواند سبب افزایش غلظت دی‌اکسید کربن در گیاه شود موجب بهبود عملکرد در شرایط خشکی می‌شود (Zbiec *et al.*, 2003). یکی از راهکارهای افزایش غلظت دی‌اکسید کربن در گیاهان استفاده از ترکیباتی نظیر متانول، اتانول، پروپانول، بوتانول و همچنین استفاده از اسیدهای آمینه گلیسین، گلوتامات و آسپارتات می‌باشد (Machado *et al.*, 2018؛ Rehman & Khalil., 2018). در بین این ترکیبات متانول یکی از ساده‌ترین فرآورده‌های گیاهی بوده که طی رشد و نمو برگ‌ها و در اثر فرایند دمتیلاسیون پکتین در دیواره‌های سلولی برگ ها تولید می‌شود. پس از تولید این ماده آلی فرار در داخل گیاهان، مقداری از آن از برگ‌ها خارج و وارد لایه مرزی و سپس اتمسفر می‌شود (Mudgett and Clarke, 1993) و بخش دیگر آن تبدیل به فرم آلدهید و سپس به اسید فرمیک و در نهایت به CO_2 تبدیل می‌شود. این CO_2 تولید شده می‌تواند بر روی آسیمیلاسیون CO_2 در گیاهان اثر بگذارد (Galball and Kristine, 2002). کاربرد خارجی متانول به‌طور مستقیم با فرآیندهای متابولیکی رشد و نمو گیاه در ارتباط است و همچنین با فرآیندهای مرتبط با مکانیسم‌های دفاعی از قبیل فعال شدن ژن‌های درگیر در بیوسنتز اسید جاسمونیک نیز مرتبط است (Gout *et al.*, 2000). بنابراین هدف از انجام این تحقیق تعیین میزان تغییرات صفات فیزیولوژیکی گیاه در شرایط تنش کم آبی با محلول پاشی متانول و تعیین میزان محلول‌پاشی متانول در کاهش اثر تنش کم آبی در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم بلبلی می باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر طی دو سال زراعی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول اجرا شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد.

www.japb.kiau.ac.ir

عوامل مورد بررسی در آزمایش شامل عامل تنش کم‌آبی در چهار سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد تامین نیاز آبی گیاه) به‌عنوان کرت اصلی و تیمار محلول‌پاشی متانول (شاهد، ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی به همراه ۲ گرم در لیتر گلیسین جهت جلوگیری از صدمات ناشی از سمیت متانول در مرحله رویشی قبل از ظهور گل، دو بار به فاصله ده روز) و دو ژنوتیپ (رقم امیدبخش ۱۰۵۷ و رقم مشهد) به‌عنوان کرت‌های فرعی بود. کرت های اصلی به عرض ۳۰/۷۵ متر و طول ۱۰متر و کرت های فرعی به طول ۱۰ متر و عرض ۴/۵ متر بود. هر کرت فرعی شامل شش پشته به طول ۱۰ متر و فاصله بین پشته ها ۷۵ سانتی‌متر، فاصله بوته‌ها روی پشته ۲۰ سانتیمتر و فاصله بین کرت های فرعی یک پشته نکاشت در نظر گرفته شد. فاصله بین کرت‌های اصلی نیز جهت جلوگیری از نفوذ آب کرت های مجاور به صورت دوپشته نکاشت و فاصله تکرارها از هم ۲ متر بود. کود فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل به میزان ۸۵ کیلوگرم در هکتار، کود پتاس از منبع سولفات پتاس به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود نیتروژن از منبع اوره به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار در کرتها به‌صورت پایه، قبل از کاشت مصرف شد. عملیات کاشت طبق عرف منطقه در تاریخ ۲۰ تیرماه به‌صورت دستی انجام شد. پس از عملیات کاشت تا استقرار بوته (چهار برگی) آبیاری یکسان و به‌طور نرمال انجام شد و سپس بر اساس تیمارها، آبیاری اعمال شد. برای اندازه‌گیری حجم آب ورودی از کنتور استفاده شد. برای آبیاری به میزان محاسبه شده به روش قطره‌ای صورت گرفت. به این صورت که روی هر پشته یک لوله نوار قطره‌ای با قطر ۱۶ میلی‌متر و فاصله روزنه ۲۰ سانتی‌متر قرار داده شد.

برای محاسبه مقدار آب موردنیاز گیاه، تبخیر و تعرق گیاه مرجع با استفاده از داده‌های روزانه هواشناسی برگرفته از ایستگاه سینوپتیک مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد دزفول و بر اساس روش تشتک تبخیر محاسبه و با اعمال ضریب گیاهی بر مبنای نشریه ۵۶ فائو تبخیر و تعرق پتانسیل تعیین شد.

در این روش برای تعیین حجم آب مورد نیاز در هر آبیاری ابتدا تبخیر و تعرق پتانسیل با توجه به میزان تبخیر از تشتک و ظریب اصلاح آن تعیین گردید (رابطه شماره ۱).

رابطه شماره ۱) $ET0= KP \times EP$

سپس تبخیر و تعرق پتانسیل در ضریب گیاهی لوبیا چشم بلبلی در آن دوره مد نظر ضرب تا تبخیر و تعرق در آن دوره خاص به دست آید (رابطه شماره ۲).

رابطه شماره ۲) $ETC= KC \times ET0$

در روابط فوق K_P ضریب تشت تبخیر است که مقدار آن با توجه به موقعیت تشتک تبخیر به لحاظ وضعیت پوشش سبز، سرعت باد، رطوبت نسبی بین ۰/۷۵ تا ۰/۸ انتخاب شد. همچنین K_C ضریب گیاهی است که در مرحله اولیه رشد، مرحله رشد و توسعه، مرحله میانی و مرحله نهایی رشد با استفاده از روش پنمن و مانتیث فائو ۵۶[1] (Allen *et al*,.1998) محاسبه شد. پس از محاسبه نیاز آبی، مقدار آب موردنیاز آبیاری بر اساس دور آبیاری دو تا چهارروزه و با اعمال راندمان آبیاری ۹۰ تا ۹۵ درصد، برای هر تیمار محاسبه و با نصب کنتور در مسیر هر تیمار و تکرار در اختیار گیاه قرار گرفت.

صفات مورد بررسی عبارت از میزان نشت یونی، رنگیزه های فتوسنتزی شامل محتوای کلروفیل ها و کاروتنوئید ها، میزان کربوهیدرات های محلول برگ و پرولین دانه بودند. جهت اندازه‌گیری میزان نشت یونی از برگ‌های کاملاً توسعه یافته و انتهایی، دیسک‌هایی برگی به روش پانچ تهیه شده و هر ۱۰ دیسک برگی (جمعاً به مساحت ۵ سانتی مترمربع) در داخل لوله‌های آزمایش دردار حاوی ۱۰ سی‌سی محلول قند مانیتول ۱ مولار، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شده و در مرحله بعد هدایت الکتریکی (EC) محلول‌ها که رابطه عکسی با مقاومت غشا سلولی دارد تعیین و مورد مقایسه قرار گرفت (Tripathy *et al.*, 2000). برای اندازه گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها از روش تغییر یافته آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد و بدین ترتیب که ۰/۵ گرم از هر نمونه برگ تازه

1 - Penman Mantienth FAO 56 (PFM 56).

در پنج میلی‌متر استون ۸۰ درصد هموژن گردیده و بعد از این مرحله از سانتریفوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شده و مایع رویی برداشته شد و سپس حجم آن با استن به ۱۰ میلی‌متر رسانده

رابطه شماره ۳)

V/1000W

رابطه شماره ۴)

V/1000W

رابطه شماره ۵)

b)/227

در روابط بالا V برابر حجم محلول صاف شده حاصل از سانتریفیوژ، W برابر وزن تر نمونه بر حسب گرم و A برابر جذب نور در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر می باشد.

جهت اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات از روش پاگوئن و لیچاسار (Paquin & Lechasseur, 1979) استفاده شد. در این روش نمونه‌ها پس از ساییده شدن در اتانول ۹۵ و سانتریفوژ در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. سپس محلول آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون+۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) به آن اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شدند تا ماده رنگی حاصل شد. بعد از خنک شدن نمونه‌ها، میزان جذب آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary, 100 Conc, United States) اندازه‌گیری شد.

میزان پرولین بذر براساس روش بتیس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت استخراج پرولین یک میلی‌لیتر از محلول را در لوله آزمایش ریخته و به آن یک میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسیداستیک گلی‌سیال اضافه گردید. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری جوشان ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند تازمانی که رنگ آجری تولید شده، تثبیت گردید سپس لوله‌ها بلافاصله در آب یخ قرار داده شدند تا واکنش‌ها سریعا متوقف شوند. به هر لوله، دو میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و محتویات لوله به خوبی مخلوط گردید، از دو فاز تشکیل شده، محلول قرمز بخش بالایی نمونه‌برداری شد. در مرحله بعد میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت کلروفیل a و کاروتنوئیدها با استفاده ار روابط زیر (روابط شماره ۳ و ۵) بدست آمد.

$$\text{Chlorophyll } a = (19.3\times A663-0.86\times A645)$$

$$\text{Chlorophyll } b = (19.3\times A645-3.6\times A663)$$

$$\text{Cartenoides} = 1000\times(A\ 470)-3.27\times(\text{chl a})-104\times(\text{chl b})/227$$

گردید و در طول موج ۵۲۰ نانومتر مقدار جذب آن قرائت شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از طریق تجزیه و واریانس و مقایسه میانگین انجام گرفت. مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون LSD به‌وسیله نرم‌افزار SAS9.2 و رسم نمودارها به کمک پردازشگر EXCEL انجام شد.

نتایج و بحث

میزان نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان نشت یونی تحت تأثیر تنش کم آبی ($P\leq$۰/۰۱)، محلول‌پاشی متانول ($P\leq$۰/۰۱) و برهمکنش تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول ($P\leq$۰/۰۱) تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میزان نشت یونی تحت برهمکنش تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و عدم محلول‌پاشی متانول (۴۲/۲۵ میکروموس بر سانتی متر) و کمترین میزان نشت یونی تحت برهمکنش تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۱۰ درصد حجمی متانول (۲۳/۲۵ میکروموس بر سانتی متر) بود (جدول ۲). در این زمینه گزارش شد، تنش کم آبی در ژنوتیپ‌های کلزا سبب افزایش معنی‌دار درصد نشت الکترولیت‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد. ولی واکنش ژنوتیپ‌ها از این حیث کاملا متفاوت بود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Rashtbari *et al.*, 2012). به نظر می‌رسد تنش خشکی با کاهش میزان تولید آسمولیت‌ها و در نتیجه تخریب غشاء سلول براثر تجزیه توسط رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش مقاومت سلول در برابر تراوش متابولیت‌ها و در نتیجه افزایش میزان نشت یونی می‌شود که محلول

www.jpb.kiau.ac.ir

پاشی متانول با فراهم آوردن CO_2 مورد نیاز جهت ادامه فتوسنتز و بازدارندگی از انجام فرایند تنفس که محصول نهایی آن تولید ROS می باشد، منجر به پیشگیری از تخریب غشاء و افزایش مقاومت غشاء سلول در برابر تروش متابولیت‌ها می گردد.

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس نشان داد کلروفیل a تحت اثر سال ($P\leq ۰/۰۱$)، تنش کم آبی ($P\leq ۰/۰۱$)، محلول‌پاشی متانول ($P\leq ۰/۰۱$)، ژنوتیپ ($P\leq ۰/۰۱$)، برهمکنش تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول ($P\leq ۰/۰۱$)، تنش کم آبی و ژنوتیپ ($P\leq ۰/۰۱$)، محلول‌پاشی متانول و ژنوتیپ ($P\leq ۰/۰۱$) و برهمکنش سه گانه تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول و ژنوتیپ ($P\leq ۰/۰۱$) قرار دارد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میزان کلروفیل a در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر تیمارهای تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول (۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان غلظت کلروفیل a در رقم مشهد درتنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۱۰ درصد (۰/۱۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳). در بررسی اثرات تنش کم آبی بر ژنوتیپ‌های نخود گزارش شد که با کاهش میزان آب قابل دسترس، محتوای کلروفیل کل در بافت سبز برگ کاهش یافت (Rahbarian *et al*., 2011). از مهمترین اثرات منفی ناشی از تنش کم آبی در گیاهان افزایش رادیکال‌های آزاد بوده که سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌شوند (Flexas and Medrano, 2008). مطالعات متعددی نشان داده که در شرایط تنش خشکی جذب منیزیم و آهن از خاک در گیاهان کاهش یافته و در نتیجه آن میزان سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد (Buchanan-Wollaston *et al*., 2003). در بررسی نقش متانول در کاهش اثرات منفی تنش کم آبی بر گیاه عدس گزارش شد که در شرایط عدم تنش آبی و تنش ملایم، متانول در افزایش و ثبات کلروفیل نقش دارد (Ahmadpour *et al*., 2016).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک لوبیا چشم بلبلی

Table 1. Results of variance analysis of physiological indices of cowpea

منابع تغییرات Variation source	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		میزان نشت یونی The rate of ion leakage (µmho/cm)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg*g^{-1}FW)	کاروتنوئیدها Carotenoids (mg*g^{-1}FW)	کربوهیدرات های حلول برگ Soluble leaf carbohydrates (µmol.g^{-1} FW)	پرولین‌دانه Proline Seed (µmol g^{-1}FW)
سال year	1	0.11^{ns}	0.01**	0.00016*	32.11**	0.00011^{ns}
تکرار*سال rep*year	4	1.92 ^{ns}	0.000001^{ns}	0.0000093^{ns}	1.59 ^{ns}	0.00008^{ns}
تنش کم آبی Water deficit stress	3	1630.76**	0.007**	0.29**	952.96**	2.26**
تنش کم آبی*سال Water deficit stress *year	3	1.11 ^{ns}	0.000003^{ns}	0.00000036^{ns}	3.37 ^{ns}	0.00010^{ns}
خطای a Error a	12	5.20	0.000005	0.000015	3.50	0.00016
محلول پاشی متانول Foliar application of methanol	2	131.67**	0.9**	0.22**	159.25**	1.79**
سال*محلول پاشی متانول Year* Foliar application of methanol	2	0.71 ^{ns}	0.0000007^{ns}	0.0000038^{ns}	0.052^{ns}	0.00051^{ns}
تنش کم آبی* محلول پاشی متانول Water deficit stress * Foliar application of methanol	6	17.44**	0.3**	0.26**	7.43**	1.11**
تنش کم آبی* محلول پاشی‌متانول*سال Water deficit stress * Foliar application of methanol*year	6	1.02 ^{ns}	0.000001^{ns}	0.000001^{ns}	0.28^{ns}	0.00018^{ns}
خطای b (Error b)	32	2.18	0.000003	0.000004	2.07	0.00025
ژنوتیپ Genotype	1	0.02 ^{ns}	0.1**	0.11**	18.77**	0.00012^{ns}
ژنوتیپ*سال Genotype*year	1	0.77 ^{ns}	0.000003^{ns}	0.0002*	1.1 ^{ns}	0.00004^{ns}
تنش کم آبی*ژنوتیپ Water deficit stress *Genotype	3	0.36 ^{ns}	0.2**	0.64**	1.29 ^{ns}	0.00013^{ns}
تنش کم آبی*ژنوتیپ*سال Water deficit stress *Genotype*year	3	1.18 ^{ns}	0.0000009^{ns}	0.0000018^{ns}	0.22 ^{ns}	0.00013^{ns}
محلول پاشی متانول*ژنوتیپ Foliar application of methanol *Genotype	2	0.29 ^{ns}	0.000002^{ns}	0.00016*	0.52 ^{ns}	0.00013^{ns}
محلول پاشی متانول*ژنوتیپ*سال Foliar application of methanol * Genotype*year	2	1.25 ^{ns}	0.0000004^{ns}	0.0000013^{ns}	0.25 ^{ns}	0.00017^{ns}
تنش کم آبی* محلول پاشی متانول*ژنوتیپ Water deficit stress * Foliar application of methanol * Genotype	6	1.10 ^{ns}	0.1**	0.0000016^{ns}	1.76 ^{ns}	0.0053*
تنش کم آبی* محلول پاشی متانول*ژنوتیپ*سال Water deficit stress * Foliar application of methanol * Genotype*year	6	0.63 ^{ns}	0.000002^{ns}	0.0000017^{ns}	1.36 ^{ns}	0.00022^{ns}
خطای کل Error	48	1.93	0.000003	0.0000036	1.86	0.00023
CV	-	2.18	2.58	0.55	1.10	2.95

^{ns}، * و ** به ترتیب به مفهوم غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** respectively in the nonsignificant and significant sense at the 5% and 1% probability levels, respectively.

www.iapb.kiau.ac.ir

جدول ۲. برهمکنش تیمارهای تنش کم آبی و محلول پاشی متانول بر میزان نشت یونی، کربوهیدراتهای محلول برگ و کارتنوئیدها

Table 2. Interaction of drought stress and methanol spraying on ion leakage, leaf soluble carbohydrates and carotenoids

تنش کم آبی Water deficit stress	محلول پاشی متانول Foliar application of methanol	میزان نشت یونی Rate of ion leakage (µmho/cm)	کربوهیدرات های محلول برگ Soluble leaf carbohydrates (µmol.g^{-1} FW)	کارتنوئیدها Carotenoids (mg*g^{-1}FW)
۲۵ درصد نیاز آبی 25% water requirement	شاهد Control	42.2 a	35 i	0.11 k
	۱۰10 ٪ درصد حجمی by volume	38.8 b	36.5 h	0.117 j
	۲۰20 ٪ درصد حجمی by volume	35.6 c	39.8 f	0.124 i
۵۰ درصد نیاز آبی 50%water requirement	شاهد Control	34.1 d	38.4 g	0.124 i
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	33 d	40.3 f	0.132 h
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	31.4 e	42.4 e	0.142 g
۷۵ درصد نیاز آبی 75%water requirement	شاهد Control	28.2 f	44.4 d	0.153 f
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by c	27.3 g	44.6 d	0.162 e
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	25.3 gh	45.9 c	0.166 d
۱۰۰ درصد نیاز آبی 100%water requirement	شاهد Control	24.3 h	46.6 c	0.175 c
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	23.2 h	49 b	0.182 b
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	23.3 h	50.8 a	0.187 a
مقدار آماره LSD		1.197	1.198	0.0019

جدول ۳. نتایج برهمکنش تنش کم آبی- محلول پاشی متانول- ژنوتیپ بر میزان کلروفیل a

Table 3. Interaction of drought stress and foliar application of methanol and genotype on chlorophyll

تنش کم آبی Water deficit stress	محلول پاشی متانول Foliar application of methanol	ژنوتیپ Genotype	کلروفیل a Chlorophylla (mg*g^{-1}FW)
۲۵ درصد نیاز آبی 25%waterrequirement	شاهد Control	1057	0.150o
		Mashhad	0.144 p
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.153 n
		Mashhad	0.1450 o
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.156 lm
		Mashhad	0.155 lm
۵۰ درصد نیاز آبی 50%water requirement	شاهد Control	1057	0.158 l
		Mashhad	0.154 mn
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.162 k
		Mashhad	0.157 l
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.1728 hi
		Mashhad	0.166 j
۷۵ درصد نیاز آبی 75%water requirement	شاهد Control	1057	0.182d
		Mashhad	0.167 j
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.177 ef
		Mashhad	0.171 i
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.182 d
		Mashhad	0.172 i
۱۰۰ درصد نیاز آبی 100%water requirement	شاهد Control	1057	0.184 c
		Mashhad	0.176 fg
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.186 b
		Mashhad	0.179 e
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.191 a
		Mashhad	0.185 bc
مقدار اماره lsd			0.0024

www.iapb.kiau.ac.ir

کاروتنوئیدها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سال ($P\leq$۰/۰۵)، تنش کم آبی ($P\leq$۰/۰۱)، محلول‌پاشی متانول ($P\leq$۰/۰۱)، ژنوتیپ ($P\leq$۰/۰۱)، برهمکنش تنش کم آبی و محلول‌پاشی ($P\leq$۰/۰۱)، برهمکنش ژنوتیپ در سال ($P\leq$۰/۰۵)، تنش کم آبی و ژنوتیپ ($P\leq$۰/۰۱) و برهمکنش محلول‌پاشی متانول و ژنوتیپ ($P\leq$۰/۰۵) بر روی میزان کاروتنوئید معنی دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین غلظت

کاروتنوئید در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی (۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان غلظت کاروتنوئید در رقم مشهد و تحت تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی (۰/۱۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین تحت برهمکنش ژنوتیپ و محلول پاشی متانول نیز بیشترین میزان غلظت کاروتنوئید در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول (۰/۱۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان غلظت کاروتنوئید نیز در رقم مشهد و تحت تاثیر عدم محلول‌پاشی (۰/۱۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۵). هم راستا با نتایج این پژوهش رمرودی و همکاران (Ramroudi *et al*., 2016) نیز در بررسی اثر محلول‌پاشی متانول در شرایط کم آبی بر گیاه بادرنجبویه گزارش کردند، میزان کاروتنوئید تحت برهمکنش تنش کم آبی و متانول معنی‌دار بود. ایشان بیان داشتند بیشترین میزان کاروتنوئید با محلول-پاشی ۳۰ درصد حجمی به دست آمد که با محلول‌پاشی ۱۵ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری نداشت. سبزینه‌ها نسبت به اکسایش (اکسیداسیون) و بازدارندگی نوری حساس بوده و در حالی که نقش کاروتنوئید ها به عنوان پادکسنده (آنتی-اکسیدان) و حفاظت کننده از سبزینه است. محققین دیگر نیز گزارش کردند که محلول‌پاشی متانول در شرایط تنش میزان سبزینه و کاروتنوئید را در برگ‌ها افزایش می‌دهد که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت (Ramandan and Omran, 2005).

جدول ٤. برهمکنش تنش کم آبی و ژنوتیپ بر غلظت کاروتنوئید

Table 4. Interaction of water deficit stress and genotype on carotenoid concentration

تنش کم آبی Water deficit stress	ژنوتیپ Genotype	کارتنوئیدها Carotenoids ($mg*g^{-1}FW$)
25	1057	0.1205556 e
	Mashhad	0.1148333 f
50	1057	0.1463333 d
	Mashhad	0.1215556 e
75	1057	0.1721111 b
	Mashhad	0.1498333 c
100	1057	0.1906111 a
	Mashhad	0.1731111 b
مقدار آماره LSD		0.0019

جدول ۵. برهمکنش محلول پاشی متانول و ژنوتیپ بر غلظت کاروتنوئید

Table 5. Interaction of Methanol and Genotype Foliar Treatments on Carotenoid Concentration

محلول پاشی متانول Foliar application of methanol	ژنوتیپ Genotype	کارتنوئیدها Carotenoids (mg*g^{-1}FW)
شاهد Control	1057	0.1509583 c
	Mashhad	0.1323333 f
10%	1057	0.1576667 b
	Mashhad	0.139875 e
20%	1057	0.1635833 a
	Mashhad	0.1472917 d
lsdمقدار اماره		0.0013

میزان کربوهیدارت‌های محلول برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ تحت اثر سال (P≤۰/۰۱)، تنش کم آبی (P≤۰/۰۱)، محلول‌پاشی متانول (P≤۰/۰۱)، ژنوتیپ (P≤۰/۰۱) و برهمکنش تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول (P≤۰/۰۱) تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میزان کربوهیدرات محلول تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول (۵۰/۸۳ میکرومول بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن تحت تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و عدم محلول‌پاشی متانول (۳۵ میکرومول بر گرم وزن تر) بود (جدول ۲). توجه به نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در لاین ۱۰۵۷ (۴۳/۱۹ مکرومول بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در رقم مشهد (۴۲/۴۷ میکرومول بر گرم وزن تر) بود (جدول ۶). همچنین مقایسه میانگین اثر سال بر روی میزان کربوهیدرات برگ نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در سال اول (۴۳/۳۰ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد که نسبت به سال دوم (۴۲/۳۶ میکرومول بر گرم وزن تر) اختلاف معنی داری داشت (جدول ۷). انباشت قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی که از نظر تأمین انرژی و جلوگیری از مرگ حتمی ایفا می‌کنند، می‌توانند باعث کاهش پتانسیل اسمزی شده و از طریق تنظیم اسمزی موجب بالاتر نگاه داشتن میزان آب نسبی شده و به این ترتیب در سازوکار تحمل به خشکی نقش مهمی دارند (Ganji *et al.*, 2016). میزان کربوهیدرات‌های برگ یکی از مکانیسم‌ها تنظیم اسمزی است که نوعی واکنش سازگاری به تنش خشکی است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها، می‌تواند به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسل‌های پایین آب منجر شود (Jiang & Huang, 2001). این تنظیم از طریق تولید بیشتر مواد آلی مانند پروتئین، قندهای محلول و اسیدهای آمینه در اندام‌های هوایی صورت می‌گیرد (Molinari *et al.*, 2004). در زمان کمبود آب نگهداری پتانسیل آب برای رشد پیوسته و یکنواخت گیاه ضروری است و این امر از طریق سازوکارهای تنظیم اسمزی ناشی از تجمع مواد محلول سازگار مانند پرولین و قندها در سیتوپلاسم امکانپذیر است (Sofo *et al.*, 2004). نتایج تحقیقی در ژنوتیپ‌های نخود تحت تاثیر تنش خشکی افزایش در کل قندهای محلول به ویژه هگزوزها مشاهده شده است (Basu *et al.*, 2007).

www.japb.kiau.ac.ir

جدول ٦. مقایسه میانگین عامل ژنوتیپ بر میزان کربوهیدرات محلول برگ
Table 6. Effect of genotype on leaf soluble carbohydrate content

	Mashhad	1057
کربوهیدرات های محلول برگ Soluble leaf carbohydrates (µmol.g^{-1} FW)	42.40 b	43.194 a
مقدار آماره LSD	0.000623	

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر سال بر میزان کربوهیدرات محلول برگ
Table 7. Effect of year on leaf soluble carbohydrate content

	سال اول First year	سال دوم Second year
کربوهیدرات های محلول برگ Soluble leaf carbohydrates (µmol.g^{-1} FW)	43.30 a	42.36 b
مقدار آماره LSD	0.904	

پرولین دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد پرولین دانه تحت تاثیر تنش کم آبی (P≤۰/۰۱)، محلول‌پاشی متانول (P≤۰/۰۱)، برهمکنش تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول (P≤۰/۰۱) و اثرمتقابل تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول و ژنوتیپ (P≤۰/۰۵) تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد کمترین میزان پرولین در رقم مشهد تحت تنش ۷۵ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۱۰ درصد حجمی (۰/۰۷۸ میکرومول بر گرم وزن تر) و بیشترین میزان پرولین دانه در رقم مشهد تحت تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و عدم محلول پاشی متانول (۰/۱۷۸ میکرومول بر گرم وزن تر) بود (جدول ۸). پرولین به عنوان یک آسمولیت سازگار عمل می‌کند؛ زیرا می‌تواند بدون اینکه مولکول‌های بزرگ سلول را خراب کند، در غلظت‌های زیاد در سلول تجمع یابد (Orabi & El-Noemani, 2015). پرولین دارای نقش محافظتی نیز می‌باشد بدین صورت که در زمان تنش خشکی شدید از آسیب غشا و پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند. بعلاوه اینکه پرولین می‌تواند به عنوان پذیرنده الکترون عمل کند و در زمان بازدارندگی نوری ناشی از اکسیژن‌های فعال از آسیب سیستم نوری جلوگیری کند (Ali *et al*., 2013). در میان اسیدهای آمینه مختلف، پرولین منبع انرژی، کربن و نیتروژن است که بعد از رفع تنش رطوبتی و برای بازگشت گیاه به شرایط قبل از اعمال تنش رطوبتی مورد توجه قرار گرفته است (Zengin & Munzuroglu, 2005). پرولین در مقادیر زیاد در پاسخ به تنش‌های محیطی، تجمع می‌یابد (Hossain *et al*., 2010). شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش ممکن است خود تامین کننده عوامل مورد نیاز تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (Bates *et al*., 1973). همراستا با یافته‌های این تحقیق، رمرودی و همکاران (Ramroudi *et al*., 2016) نیز تاثیر تنش کم آبی و محلول‌پاشی متانول را بر میزان پرولین برگ نخود معنی‌دار گزارش کردند. ایشان گزارش کردند با افزایش تنش خشکی میزان پرولین برگ افزایش یافت، به طوری که بیشترین میزان پرولین در تیمار ۶۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی مشاهده شد. تنش خشکی در مراحل اولیه اسید آمینه‌ها را در گیاهان افزایش می‌دهد، اما با ادامه تنش تنها

اسیدآمینه پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می‌شود (Abdelhamid *et al.*, 2013). در شرایط تنش درازمدت، انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس، منجر به تغییر غلظت برخی متابولیت‌ها از جمله پرولین که باعث سازگاری گیاه به خشکی می شود، افزایش می‌یابد (Ramroudi *et al.*, 2016).

جدول ۸. برهمکنش تیمارهای تنش کم آبی و محلول پاشی متانول و ژنوتیپ بر غلظت و پرولین دانه

Table 8. Interaction of water deficit stress and foliar application of methanol and genotype on proline concentration and proline

تنش کم آبی Water deficit stress	محلول پاشی متانول Foliar application of methanol	ژنوتیپ Genotype	پرولین‌دانه Proline Seed ($\mu mol\ g^{-1}FW$)
۲۵ درصد نیاز آبی 25%water requirement	شاهد Control	1057	0.17 ab
		Mashhad	0.17 a
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.12 cd
		Mashhad	0.15 b
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.13 c
		Mashhad	0.13 c
۵۰ درصد نیاز آبی 50%water requirement	شاهد Control	1057	0.12 cd
		Mashhad	0.13 c
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.12 cd
		Mashhad	0.12 cd
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.09 ef
		Mashhad	0.09 ef
۷۵ درصد نیاز آبی 75%water requirement	شاهد Control	1057	0.09
		Mashhad	0.11 de
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.095 efg
		Mashhad	0.078 g
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.087 fg
		Mashhad	0.09 fg
۱۰۰ درصد نیاز آبی 100%water requirement	شاهد Control	1057	0.094 efg
		Mashhad	0.093 fg
	۱۰ درصد حجمی 10 ٪by volume	1057	0.092 fg
		Mashhad	0.095 efg
	۲۰ درصد حجمی 20 ٪by volume	1057	0.084 fg
		Mashhad	0.082 fg
lsdمقدار اماره			0.901

www.iapb.kau.ac.ir

نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که کمترین میزان نشت یونی تحت برهمکنش تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول-پاشی ۱۰ درصد حجمی متانول و کمترین میزان پرولین در رقم مشهد تحت تنش ۷۵ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۱۰ درصد حجمی مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان کلروفیل a در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول و نیز بیشترین میزان کربوهیدرات محلول نیز تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی و محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول مشاهده شد. با توجه به نتایج بیشترین غلظت کاروتنوئید در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر تیمار تامین ۱۰۰ درصد نیاز آبی در لاین ۱۰۵۷ تحت اثر محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول و بیشترین میزان پرولین دانه در رقم مشهد تحت تنش کم آبی ۲۵ درصد نیاز آبی و عدم محلول پاشی متانول مشاهده شد.

کمبود آب یکی از عمده‌ترین تنش‌های غیره‌زنده است که با برهم زدن توازن اسمزی گیاهان، موجب کاهش رشد و عملکرد آنها می‌شود، این کاهش براثر تغییراتی همچون تغییرات فیزیولوژیکی و خسارت‌هایی که با افزایش عوامل اکسنده ایجاد می‌شود، سبب محدودیت رشد و تولید می-گردد. از عمده‌ترین تغییرات مربوط به عملکرد متابولیکی تغییریافته، کاهش سنتزرنگدانه‌های فتوسنتزی است که نتیجه کاهش جذب نور و کاهش قدرت تولید فتوسنتز به عنوان منبع انرژی برای واکنش تاریکی می‌باشد. تنش کم آبی روی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه در مراحل مختلف رشد موثر است و اگر تا مراحل بیوشیمیایی پیش رود منجر به محدودکردن رشد و تولیدات گیاه می شود. گیاهان برای کاهش اثرات منفی تنش کم آبی از مکانیسم‌های متنوعی استفاده کرده و در مقابل آن از طریق تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی به تنش پاسخ می‌دهند. در مقیاس سلولی، گیاه آثار مضر تنش را با افزایش متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از طریق تجمع مواد آلی تعدیل می‌کند. افزایش انباشتگی پرولین، قندهای محلول در شرایط تنش با تحمل به کم آبی ارتباط داشت. همچنین از جمله تغییرات فیزلوژیکی می‌تواند به میزان نشت یونی اشاره کرد که تحت تاثیر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی متانول قرار گرفتند. کاهش غیرقابل برگشتی در ظرفیت فتوسنتزی بوجود آمد که احتمالا ناشی از صدمه وارده به غشای کلروپلاست بود. با توجه به یافته های پژوهش می توان چنین استنباط کرد که بسته شدن روزنه ها در شرایط تنش های رطوبتی جهت جلوگیری از تبخیر و تعرق، سبب کاهش میزان CO_2 در دسترس جهت ادامه فرایندهای فتوسنتزی می گردد؛ در نتیجه O2 به عنوان آلترناتیو CO_2 به عنوان گیرنده الکترون در چرخه انتقال الکترون عمل می نماید که محصول نهایی آن تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و در نتیجه تخریب ملکول هایی زیستی و غشاء سلولی می باشد. لذا در چنین شرایطی محلول پاشی متانول سبب جذب برگی متانول توسط گیاه شده و در سلول های گیاهی متانول به CO_2 تبدیل شده و با توجه به میل ترکیبی بیشتر رابیسکو با ملکول CO2 نسبت به O2 فرایند های فتوسنتزی ادامه یافته و در نتیجه تولید رادیکال های آزاد اکسیژن کاهش می یابد.

References

فهرست منابع

Abdelhamid, M. T., Rady, M. M., Osman, A. S., & Abdalla, M. A. 2013. Exogenous application of proline alleviates salt-induced oxidative stress in Phaseolus vulgaris L. plants. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *88*(4), 439-446.

Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S.R., and Armand, N., 2016. Evaluation of Methanol role in reducing the negative effects of water deficit stress in lentil (Lens culinarisMedik.). Journal of Plant Process and Function. 5(17), 1-14.

Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., & Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO Irrigation and drainage paper 56. *Fao, Rome*, *300*(9), D05109.

Ali, H. M., Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Basalah, M. O., Sakran, A. M., & El-Zaidy, M. 2013. Effect of proline and abscisic acid on the growth and physiological performance of faba bean under water stress. *Pak. J. Bot*. 45(3): 933-940.

Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23 (1): 112-121.

Bates, L. S., Waldern, R. P, Tear, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil science. 39: 205-207.

Basu, P. S., Berger, J. D., Turner, N. C., Chaturvedi, S. K., Ali, M. and Siddique, K. H. M., 2007. Osmotic adjustment of chickpea (Cicer arietinum) is not associated with changes in carbohydrate composition or leaf gas exchange under drought. Annals of Applied Biology. 150: 217 - 225.

Boukar, O., Belko, N., Chamarthi, S., Togola, A., Batieno, J., Owusu, E., and Fatokun, C. 2019. Cowpea (Vigna unguiculata): Genetics, genomics and breeding. Plant Breeding. 138 (4): 415-424.

Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navabpour, S., Page, T., and Pink, D. 2003. The molecular analysis of leaf senescencea genomics approach. Plant biotechnology journal. 1 (1): 3-22.

Dar, M. I., Naikoo, M. I., Khan, F. A., Rehman, F., Green, I. D., Naushin, F., and Ansari, A. A. 2017. An introduction to reactive oxygen species metabolism under changing climate in plants. In *Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*. 25-52.

Davoodi, S. H., Rahemi-karizaki, A., Nakhzari-moghadam, A. and Gholamalipour Alamdari, E. 2018. The Effect of Deficit Irrigation on Yield and Physiological Traits ofBean Cultivars.plant production technology. 10 (1): 83-95.

Dawood, M. F., and Azooz, M. M. 2019. Concentration-dependent effects of tungstate on germination, growth, lignification-related enzymes, antioxidants, and reactive oxygen species in broccoli (*Brassica oleracea var. italica* L.). *Environmental Science and Pollution Research*. 26 (36): 36441-36457.

Flexas, J., and Medrano, H. 2008. Drought-inhibition of photosynthesis in C3- plants: Stomatal and nonstomatal limitation revisited. *Annals of Botany*. 183: 183-189.

Galball, E., and Kristine, W. 2002. The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *Journal of Atmospheric Chemistry*. 43: 195-229.

Ganji, M., Farahmandfar, E., Shahbazi, M., and Zahravi, M. 2016. Biochemical characterization and grain yield of selected genotypes of wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. spontaneum) Different levels of drought stress. *Journal of Plant Process and Function*. 5 (15): 75-90.

www.rpbp.kiau.ac.ir

Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A.R., Benson, A. and Douce, R. 2000. PlantMetabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Journal of Plant Physiology*. 123: 287-296.

Hossain, M. A., Hasanuzzaman, M., and Fujita, M. 2010. Up-regulation of antioxidant and glyoxalase systems by exogenous glycinebetaine and proline in mung bean confer tolerance to cadmium stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 16 (3): 259-272.

Jiang, Y., and Huang, B. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought preconditioning-enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Crop Science*. 41 (4): 1168-1173.

Kaur, G., & Asthir, B. 2017. Molecular responses to drought stress in plants. *Biologia Plantarum*, 61 (2): 201-209.

Koocheki, A. and Banayan aval, m. 2009. Pulse crops. *Mashahd student book agency*.

Lee, B. R., Islam, M. T., Park, S. H., Jung, H. I., Bae, D. W., & Kim, T. H. 2019. Characterization of salicylic acid-mediated modulation of the drought stress responses:

Reactive oxygen species, proline, and redox state in Brassica napus. *Environmental and Experimental Botany*. 157: 1-10.

Machado, C. F. R., Araújo, O. D. Q. F., de Medeiros, J. L., & de Brito Alves, R. M. 2018. Carbon dioxide and ethanol from sugarcane biorefinery as renewable feedstocks to environment-oriented integrated chemical plants. *Journal of Cleaner Production*. 172: 1232-1242.

Miller, G., Suzuki, N., and Ciftci-Yilmaz, S. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signaling-ring drought and salinity stresses. Plant Cell and En-viro. 33: 453-467.

Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Bespalhok Filho, J. C., Kobayashi, A. K., Pileggi, M., Júnior, R. P. L., & Vieira, L. G. E. 2004. Osmotic adjustment in transgenic citrus rootstock Carrizo citrange (*Citrus sinensis* Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) overproducing proline. *Plant Science*. 167 (6): 1375-1381.

Mudgett, M. E. and Clarke, S. 1993. Characterization of plant L-isoaspartylmethyl transferases that may be involved in seed survival. Purification, characterization and sequence analysis of the wheat germ enzyme. *Journal of Biochemistry Research*. 32: 1100-1111.

Nonomura, A. M. 1997. Method and composition for enhancing carbon fixation in plants. National Academy Science. 99: 974-984.

Ober, E. 2001. The search for drought tolerance in sugar beet. *British Sugar Beet Review*. 69: 40-43.

Orabi, S. A. and El-Noemani, A. S. A. 2015. Role of proline in improving drought tolerance of faba bean plants via antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 31-43.

Paquin, R. and Lechasseur, P. 1979. Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*. 57 (18): 1851-1854.

Puthur, J. T. 2016. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 2 (1): 9-13.

Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A. 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. Series Botanica*. 53 (1).

Ramandan, T. and Omran, Y. A. M. M. 2005. The effect of foliar application of methanol on productivity and fruit quality of grapevine cv. Flame Seedless. *Vitis*. 44 (1): 11-16.

Ramroudi, M., Chezgi, M. and Galavi, M. 2016. Effect of methanol spraying on quantitative traits and osmatic adjustments in Moldavian (*Dracocephlum moldavica* L.) under low irrigation conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 48 (1): 149-158.

Rashtbari, M., Alikhani, H.A., Ghorchiani, M. 2012. Effect of vermicompost and municipal solid waste compost on growth and yield of canola under drought stress conditions. *International Journal of Agriculture: Research and Review*. 2 (4): 395-402.

Rehman, A. and Khalil, S. K. 2018. Effect of Exogenous Application of Salicylic Acid, Potassium Nitrate and Methanol on Canola Growth and Phenology under Different Moisture Regimes. *Sarhad Journal of Agriculture*. 34 (4): 781-789.

Sharma, P., Jha, A., Dubey, R. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and anti-oxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*. 14: 1-26.

Silva, R. G. G., Vasconcelos, I.M., Martins, T.F., Varela, A. L. N., Souza, P.F.N., Lobo, A.K.M., Silva, F. D. A., Silveira, J.A.G., and Oliveira, J. T. A. 2016. Drought increases cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) Susceptibility to cowpea severe mosaic virus (CPSMV) at early stage of infection. Plant Physiology and Biochemistry. 109: 91-102.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., and Masia, A. 2004. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia plantarum*. 121 (1): 58-65.

Tripathy, J. N., Zhang, J., Robin, S., Nguyen, T. T., & Nguyen, H. T. 2000. QTLs for cell-membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. *Theoretical and Applied Genetics*. 100 (8): 1197-1202.

Trchounian, A., Petrosyan, M., & Sahakyan, N. 2016. Plant cell redox homeostasis and reactive oxygen species. *In Redox state as a central regulator of plant-cell stress responses*. 25-50.

Zbiec, I., Karczmarczyk, S., and Koszanski, Z. 2003. Influence of methanol on some cultivated plants. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 6: 1-7.

Zengin, F. K. and Munzuroglu, O. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 47 (2): 157-164.

www.ijpb.kiau.ac.ir

ISSN NO: 2008-8485

Journal of Agronomy and Plant Breeding
Vol 15. No. 1, 2019

The effect of methanol foliar application on some physiological traits of cowpea bean (*Vigna unguiculata* L.) under drought stress conditions

A. A. Saneinejad[1]*, M. Touhidi[2], B. Habibi Khaniani[3], M. Sadeghi[4], M. Khorramian[5]

B. Received date: 3 May 2020 Accepted date: 2 October 2020

Abstract

The aim of this study id analysis the effect of methanol foliar application on the physiological traits of beans (*Vigna unguiculata* L.) genotype under water deficit stress as a split plot design was conducted in a randomized complete block design in Safiabad Dezful Agricultural Research and Natural Resources and Training Center in 2018 and 2019 years. Water deficit stress was the main plots include four levels (25, 50, 75 and 100% of plant water requirement) and combined foliar application of methanol including 3 levels (control, 10 and 20%) and genotype treatment including two cultivars omidbakhsh 1057 And Mashhad was in sub-plots. The results showed that the interaction of water deficit stress and foliar application of methanol on ion leakage, chlorophyll a, carotenoids, leaf soluble carbohydrates and proline grains was significant at the 1% probability level. The lowest amount of ionic leakage observed under the interaction of 100% water deficit stress and 10% foliar aplication of methanol (25/23 µmos/cm) and the highest amount of ion leakage under the interaction of 25% water deficit stress and the without foliar application of methanol (control) (42.25 µmos/cm). The highest amount of chlorophyll a was observed in line 1057 under the 100% water deficit stress and 20% foliar application of methanol (0.19 µmol.g^{-1} FW). The highest concentration of carotenoids in line 1057 under the treatment of 100% water deficit stress (0.19 µmol.g^{-1} FW) and the highest amount of soluble carbohydrates under the treatment of 100% water deficit stress and 20% foliar application of methanol (50.83 µmol.g^{-1} FW) was observed. Also, according to the research findings the lowest amount of proline observed in Mashhad cultivar under 75% water deficit stress of water requirement and 10% foliar application of mrthanol (0.78 µmol g^{-1}FW) and the highest amount of proline grain observed in Mashhad cultivar under water deficit stress 25% of water requirement and without foliar application of methanol (control) (0.178 µmol g^{-1}FW).

Keywords: Carotenoids, Chlorophyll, Foliar Application of Methanol, Ion Leakage, Proline, Water Deficit Stress.

1 - Department of Anatomy,Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran.
2 - Department of Anatomy, Dezful Branch,Islamic Azad University, Dezful, Iran.
3 - Department of Anatomy, Dezful Branch,Islamic Azad University, Dezful, Iran.
4 - Assistant Professor, Department of Anatomy, Dezful Branch,Islamic Azad University, Dezful, Iran.
5 - Department of Anatomy, Dezful Branch,Islamic Azad University, Dezful, Iran.
*Corresponding author: ali.saneinejad@gmail.com