

## اثر متانول بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، برخی اسمولیت‌های سازگار و صفات بیوشیمیایی گندم تحت شرایط قطع آبیاری

حامد نریمانی<sup>۱\*</sup>، رؤف سیدشریفی<sup>۲</sup> و فاطمه آقایی<sup>۳</sup>

(۱) دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۲) استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۳) کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

\*نویسنده مسئول: [hamed.narimani.72@gmail.com](mailto:hamed.narimani.72@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۰۳

### چکیده

به منظور بررسی اثر متانول بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، برخی اسمولیت‌های سازگار و صفات بیوشیمیایی گندم تحت شرایط قطع آبیاری، این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح آبیاری (آبیاری کامل به عنوان شاهد، قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله سنبله‌دهی و قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله شکم‌خوش (آبستنی) به ترتیب به عنوان محدودیت ملایم و شدید آبی بر اساس کد ۵۵ و ۴۳ مقیاس BBCH) و محلول‌پاشی متانول در چهار سطح (محلول‌پاشی با آب به عنوان شاهد و محلول‌پاشی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول) بود. نتایج نشان داد محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل موجب افزایش ۴۲/۸۳، ۳۶/۰۱، ۲۹/۶۹، ۵۷/۹۳ و ۴۹/۹۸ درصدی محتوای کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، درصد پروتئین و عملکرد دانه و کاهش ۶۳/۷۷ و ۷۵/۵۸ درصدی به ترتیب محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدهید، نسبت به عدم محلول‌پاشی تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش گردید. محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش موجب افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول (به ترتیب ۱۲۵/۴۲ و ۹۱/۹۳ درصد) نسبت به عدم محلول‌پاشی متانول در شرایط آبیاری کامل شد. همچنین محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) شد. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول می‌تواند عملکرد دانه گندم را در شرایط قطع آبیاری به واسطه‌ی بهبود صفات بیوشیمیایی افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید و محتوای کلروفیل.

## مقدمه

تنش آبی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد در مناطق برخورداری از شرایط اقلیمی مدیترانه‌ای است. در این مناطق، قسمت اصلی بارندگی در فصل زمستان اتفاق می‌افتد و گیاهان معمولاً از زمان گل‌دهی تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، با محدودیت آبی مواجه می‌شوند (جعفرنژاد و همکاران، ۱۳۹۲). تنش آبی با کاهش سنتز کربوهیدرات و خسارت به رنگیزه‌ها به علت تولید گونه‌های فعال اکسیژن، ضمن تخریب پروتئین‌ها (Zhang *et al.*, 2015)، ساختارهای غشایی و غیرفعال شدن آنزیم‌ها، موجب کاهش فتوسنتز و عملکرد گندم می‌شود (Zhao *et al.*, 2017). گیاهان به کمک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و غیرآنتی‌اکسیدانی ضمن مقابله با خسارت‌های ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن، می‌توانند در شرایط وقوع تنش خشکی به رشد مناسب‌تر خود ادامه دهند (Sharma *et al.*, 2012). از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز (تبدیل‌کننده سوپراکسید به پراکسید هیدروژن)، کاتالاز و پراکسیداز (تبدیل‌کننده پراکسید هیدروژن به آب) و از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی به آسکوربات، گلوکاتینون، آلفاتوکوفرول، کارتنوئیدها، پرولین و قندها اشاره نمود (Soares *et al.*, 2019). از این‌رو مقاومت گیاهان به اثر مخرب تنش خشکی، بستگی به قدرت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن دارد که تحت چنین شرایطی تولید می‌شود (Amoah *et al.*, 2019). حسین‌زاده و همکاران (۱۳۹۴) اظهار داشتند که افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در شرایط تنش خشکی موجب کاهش محتوای پروتئین در برگ‌ها شد که در این شرایط گیاه با افزایش محتوای اسمولیت‌های سازگار (محتوی پرولین و قندهای محلول)، میزان مالون‌دی‌آلدهید برگ را کاهش داد. بستن روزنه‌ها به منظور کاهش تعرق، اولین سازوکار تحمل گیاهان به محدودیت آبی است، اما از اثر منفی این پاسخ در گیاهان، کاهش ورود دی‌اکسیدکربن به سلول‌های برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز می‌باشد (Rahbarian *et al.*, 2011). یکی از راهکارهای افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن درون برگ در گیاهان استفاده از متانول می‌باشد (نادعلی و همکاران، ۱۳۸۹). محلول‌پاشی متانول با افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش از طریق افزایش جذب دی‌اکسیدکربن، تاثیر مثبتی بر رشد، توسعه و متابولیسم گیاهان دارد (Hossinzadeh *et al.*, 2012). متانول با تبدیل به دی‌اکسیدکربن، ضمن افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن درون سلول‌های برگ می‌تواند با انجام عمل فتوسنتز و ماده‌سازی بیشتر، منجر به مصرف NADPH و ATP تولید شده در زنجیره انتقال الکترون شود. بدین ترتیب از تجمع آن در کلروپلاست سلول‌های برگ و تشکیل سوپراکسید جلوگیری کرده (Hosseinzadeh *et al.*, 2016) و در نهایت موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. سوقانی و همکاران (۱۳۹۰) افزایش فعالیت فتوسنتزی و عملکرد را در کاربرد متانول، به نقش این ماده در ممانعت از تنفس نوری و به تعویق انداختن پیری برگ‌ها، نسبت دادند. حسین‌زاده و همکاران (۱۳۹۲) نیز اظهار داشتند که در

شرایط تنش، محلول پاشی متانول با افزایش طول و سطح ریشه و کمک به جذب عناصر غذایی به ویژه منیزیم و آهن از خاک ضمن افزایش محتوای کلروفیل برگ نخود، با افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول موجب کاهش محتوای مالون دی آلدهید شد. با توجه به کاهش بارندگی سالانه و مواجه شدن بخشی از دوران رشدی گندم با محدودیت آبی و از طرفی به دلیل اهمیت محلول پاشی متانول در تعدیل و کاهش بخشی از اثر تنش آبی و بررسی های محدود انجام شده در خصوص برهم کنش توام این دو عامل، موجب شد تا اثر سطوح آبیاری و متانول بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی، اسمولیت های سازگار و صفات بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گیرد.

### مواد و روش ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ اردبیل اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح آبیاری (آبیاری کامل به عنوان شاهد، قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله سنبله دهی و قطع آبیاری در ۵۰ درصد مرحله شکم خوش (آبستنی) به ترتیب به عنوان محدودیت ملایم و شدید آبی (Khalilzadeh *et al.*, 2016) بر اساس کد ۵۵ و ۴۳ مقیاس BBCH (سیدشریفی و خلیلزاده، ۱۳۹۶) و محلول پاشی متانول در چهار سطح (محلول پاشی با آب به عنوان شاهد و محلول پاشی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول) بود. محلول پاشی با متانول در دو نوبت و در مراحل ساقه دهی و ظهور برگ پرچم اعمال شد (Albrecht *et al.*, 1995). با توجه به اینکه بهترین زمان محلول پاشی با متانول ساعت ۱۰ تا ۱۲ در روشنایی بود تا حداکثر فتوسنتز انجام شود و نقش متانول بر صفات مورد ارزیابی بهتر نمایان شود (Nonomura and Benson, 1992)، از این رو همه تیمارها در این محدوده زمانی محلول پاشی شدند. به هر کدام از محلول های تهیه شده با متانول دو گرم در لیتر گلایسین به منظور جلوگیری از صدمات ناشی از سمیت متانول اضافه شد. اولین آبیاری بعد از کاشت و آبیاری های بعدی بسته به شرایط محیطی و نیاز گیاه زراعی و بر اساس سطح مربوطه انجام شد. در این بررسی از رقم گندم کاسکوژن استفاده شد که رقمی پابلند، با تیپ رشد زمستانه و مقاوم به سرما و خوابیدگی است. وزن هزار دانه این رقم ۴۸ گرم، رنگ دانه آن زرد کهربایی و از نظر کیفیت نانوائی در گروه ارقام با کیفیت بسیار خوب قرار دارد (قائمی بایگی و همکاران، ۱۳۹۲). بذر این رقم از ایستگاه تحقیقات جهاد کشاورزی اردبیل تهیه شد. عملیات خاک ورزی شامل شخم توسط گاو آهن برگردان دار، دیسک، لولر و اجرای طرح در تناوب آیش بود. هر واحد آزمایشی شامل پنج خط کاشت به طول سه متر با فاصله بین ردیفی ۲۰ سانتی متر بود. کاشت در عمق ۴-۳ سانتی متری و با تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع که تراکم مطلوب و توصیه شده برای این رقم است انجام شد. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک و مشخصات جوی محل اجرای آزمایش به ترتیب در جدول های ۱ و ۲ آورده شده است.

## جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

مشخصه	عصاره اشباع	اسیدیته	بافت	آهک	رس	سیلت	شن	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر	پتاسیم	روی
مقادیر	۴۹	۷/۸	لومی	۱۴/۴	۲۳	۴۲	۳۵	۰/۶۲	۰/۰۶	۸/۲۹	۲۰۲	۱۸

## جدول ۲: ویژگی‌های جوی در طول دوره رشدی (اداره کل هواشناسی استان اردبیل)

ماه	بارندگی	میانگین دما (درجه سانتی‌گراد)	جمع ساعات آفتابی	متوسط رطوبت (درصد)
مهر	۴۲/۶	۱۱/۸	۲۰۱/۳	۷۲
آبان	۹/۷	۱۱/۷	۱۶۶/۵	۶۴
آذر	۶/۵	۴	۱۷۷/۳	۷۰
دی	۱۶/۵	۴/۶	۱۶۵/۴	۶۷
بهمن	۵۴/۸	۰/۶	۱۲۸/۷	۷۷
اسفند	۲۶/۵	۷	۱۵۷/۵	۷۳
فروردین	۹/۳	۹	۱۷۰/۹	۶۶
اردیبهشت	۶۰/۳	۱۲/۳	۱۹۶/۳	۷۱
خرداد	۲۸/۲	۱۶/۸	۱۴۸/۶	۷۱
تیر	۳/۹	۲۱/۵	۳۴۴/۲	۶۰
مرداد	۰/۹	۲۵/۳	۲۵۵/۶	۶۹
شهریور	۷/۳	۱۷/۵	۲۸۲/۱	۶۸

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز) از روش Sudhakar و همکاران (۲۰۰۱)، استخراج و اندازه‌گیری پروتئین کل برگ از روش Bradford (۱۹۷۶)، میزان قندهای محلول از روش Dubios و همکاران (۱۹۵۶)، محتوی مالون‌دی‌آلدهید از روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰)، محتوی پراکسید هیدروژن از روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱)، محتوی کلروفیل از روش Arnon (۱۹۷۶)، میزان پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. تمامی این صفات بر روی برگ پرچم اندازه‌گیری شد. عملکرد دانه با برداشت از سطحی معادل ۰/۲ متر مربع (با رعایت اثر حاشیه از دو خط اصلی هر واحد آزمایشی به طول ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیفی ۴۰ سانتی‌متر) برآورد شد. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SAS و Excel و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند.

## نتایج و بحث

## محتوای کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محلول‌پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم‌کنش دوگانه بر محتوای کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ پرچم در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر محلول‌پاشی متانول و

سطوح آبیاری بر محتوای کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر برهم‌کنش دوگانه بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۳). نتایج نشان داد که محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل موجب افزایش ۴۲/۸۳، ۳۶/۰۱ و ۲۹/۶۹ درصدی محتوای کلروفیل b، کل و کارتنوئید نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی متانول تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش شد (جدول ۴). قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش موجب کاهش ۱۸/۶۲ درصدی محتوای کلروفیل a نسبت به شرایط آبیاری کامل شد. همچنین محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول موجب افزایش ۱۲/۶۸ درصدی محتوای کلروفیل a نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی شد (جدول ۵). تنش آبی منجر به اختلال در سیستم‌های آنزیمی فرونشاندنده گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که این امر منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی‌های غشایی و در نتیجه خسارت به غشاء سلولی و همچنین تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد (Masoumi *et al.*, 2010). Orabi و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری و خشکی، منجر به افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند آبسزیک اسید و اتیلن می‌شود که تحریک‌کننده‌ی آنزیم کلروفیلاز هستند و به این ترتیب کلروفیل‌ها به وسیله این آنزیم تجزیه می‌شوند. همچنین سرافراز اردکانی (۱۳۹۸) اظهار داشت که تنش خشکی موجب کاهش محتوای کلروفیل گندم شد. در این بررسی نیز نتایج حاصل از ارزیابی محتوای مالون‌دی‌آلدئید نشان می‌دهد که در همان ترکیب‌های تیماری که محتوای مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافته است (جدول ۴) در همان ترکیب‌های تیماری محتوای کلروفیل کاهش داشته است. حسین‌زاده و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که محلول‌پاشی متانول با افزایش طول، سطح ریشه و جذب عناصر غذایی به‌ویژه منیزیم و آهن از خاک، موجب بهبود محتوای کلروفیل برگ نخود شد. سبک‌رو فومنی و همکاران (۱۳۹۰) اظهار داشتند که متانول محلول‌پاشی شده بر روی گیاه به سرعت وارد بافت‌های گیاهی شده و می‌تواند با ورود به ساختار سرین و تغییر متابولیسم کربن گیاه، بر محتوای کلروفیل گیاه اثر گذارد. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی متانول تحت شرایط محدودیت شدید آبی (قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش) با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۷) و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن برگ پرچم موجب افزایش محتوای کلروفیل (جدول‌های ۴ و ۵) شده است.

### محتوای مالون‌دی‌آلدئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول‌پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم‌کنش دوگانه بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ پرچم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). عدم محلول‌پاشی متانول تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش موجب افزایش ۷۵/۵۸ درصدی محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ پرچم نسبت به شرایط محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل شد. محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول و آبیاری کامل موجب کاهش

۷۵/۵۸ درصدی محتوای مالون‌دی‌آلدهید نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی در شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش شد (جدول ۴). بخشی از کاهش محتوی مالون‌دی‌آلدهید در محلول‌پاشی متانول را می‌توان به نقش این ماده در افزایش اسمولیت‌های سازگار (پروکلین و قندهای محلول) (جدول ۷) و کاهش محتوی پراکسید هیدروژن برگ پرچم (جدول ۴) نسبت داد که با تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی، موجب حفظ ساختار غشاء، کاهش ترکیبات ROS<sup>۱</sup> و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شود (Zafari et al., 2012). نتایج مشابهی نیز توسط حسین‌زاده و همکاران (۱۳۹۴) مبنی بر کاهش محتوی مالون‌دی‌آلدهید برگ نخود به‌واسطه محلول‌پاشی با متانول، گزارش شده است. محلول‌پاشی متانول با بهبود هدایت روزنه‌ای موجب افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن درون سلول‌های برگ و در نهایت فتوسنتز می‌شود (Zheng et al., 2008)، این شرایط از تشکیل پراکسید هیدروژن جلوگیری کرده و موجب کاهش محتوی مالون‌دی‌آلدهید می‌شود (حسین‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴).

### محتوای پراکسید هیدروژن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول‌پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم‌کنش دوگانه بر محتوای پراکسید هیدروژن در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل موجب کاهش ۶۳/۷۷ درصدی محتوی پراکسید هیدروژن نسبت به عدم محلول‌پاشی تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش شد (جدول ۴). امرایی و همکاران (۱۳۹۶) اظهار داشتند که محلول‌پاشی متانول کارایی مثبتی در شرایط تنش خشکی بر کاهش تولید پراکسید هیدروژن داشته است که در واقع به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در قسمت‌های مختلف گیاه منجر می‌شود. از طرفی تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی و شوری موجب محدود شدن تثبیت دی‌اکسیدکربن می‌شوند، بنابراین می‌توان گفت که با کاهش غلظت دی‌اکسیدکربن کلروپلاستی، تنفس نوری افزایش یافته و در نتیجه تولید پراکسید هیدروژن نیز افزایش می‌یابد (Yordanov et al., 2003). برای جلوگیری از کاهش چرخه انتقال الکترون کلروپلاستی، گیاهان عالی مسیر تنفس نوری را به راه انداخته و از این طریق موجب تولید مجدد NADP<sup>+</sup> می‌شوند. در قسمتی از مسیر تنفس نوری، پراکسید هیدروژن در پراکسی‌زوم‌ها تولید می‌شود که می‌تواند ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب در پراکسی‌زوم باشد (Shao et al., 2008)، که با کاربرد متانول تثبیت دی‌اکسیدکربن صورت گرفته و با تولید مجدد NADP<sup>+</sup> توسط سیکل کالوین، چرخه فتوسنتزی ادامه یافته و تولید پراکسید هیدروژن کاهش یافته است (امرایی و همکاران، ۱۳۹۶). از طرفی محلول‌پاشی متانول با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن، منجر به کاهش تنفس نوری و کاهش پراکسید هیدروژن تولید شده می‌شوند (جدول ۴). حسین‌زاده و

همکاران (۱۳۹۴) کاهش محتوای پراکسید هیدروژن در شرایط تنش خشکی را به افزایش تثبیت دی‌اکسیدکربن به‌واسطه کاربرد متانول نسبت دادند که با تولید مجدد  $NADP^+$  توسط سیکل کالوین افزایش یافته و به‌دنبال آن چرخه انتقال الکترون فتوسنتزی نیز افزایش می‌یابد که این امر منجر به کاهش تولید رادیکال‌های سوپراکسید و اکسیژن فعال در کلروپلاست می‌شود.

### درصد پروتئین برگ پرچم

اثر محلول‌پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم‌کنش دوگانه بر درصد پروتئین برگ پرچم در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج نشان داد که محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل موجب افزایش ۵۷/۹۳ درصدی محتوای پروتئین برگ پرچم نسبت به شرایط عدم محلول‌پاشی تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش شد (جدول ۴). کاهش قابل ملاحظه محتوی پروتئین در شرایط تنش شدید می‌تواند به کاهش زیر واحدهای روبیسکو و افزایش در اکسیداسیون پروتئین مرتبط باشد (Tahkokorpi, 2010). به‌طور معمول کمبود آب موجب به‌وجود آمدن تغییراتی در فعالیت آنزیم‌ها و متابولیسم نیتروژن می‌شود، در این شرایط مقدار پروتئین‌ها از لحاظ کمی کاهش می‌یابد و این حالت موجب تجمع بیش‌تر اسیدهای آمینه، گلیسین بتائین و پرولین می‌شود (Lobato et al., 2008). در این بررسی نیز بیش‌ترین محتوی پرولین (جدول ۷) در محدودیت شدید آبی (قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش) به‌دست آمد. بخشی از افزایش محتوی پروتئین در اثر محلول‌پاشی متانول می‌تواند ناشی از نقش باکتری‌های متیلوتروف<sup>۱</sup> موجود در برگ گیاهان باشد که با مصرف متانول به‌عنوان ماده مغذی قادر به تولید هورمون‌های اکسین و سیتوکینین در برگ بوده و در افزایش پروتئین‌سازی نقش اساسی دارند (Madhaiyan et al., 2006). از طرفی به‌نظر می‌رسد کاربرد متانول تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش، با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن برگ پرچم و بهبود محتوی کلروفیل برگ پرچم، موجب افزایش درصد پروتئین برگ پرچم شده است (جدول ۴).

### آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز)

تجزیه واریانس نشان داد که محلول‌پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم‌کنش دوگانه بر فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۶). عدم محلول‌پاشی متانول تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش موجب افزایش ۵۳/۹ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به محلول‌پاشی ۲۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). Ji-Ya و Hong (۲۰۰۷) اظهار داشتند که تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز یکی از راهکارهای مقابله برای کاهش اثر مخرب گونه‌های فعال اکسیژن است

که موجب کاهش پراکسید هیدروژن می‌شود. نتایج نشان داد که عدم محلول‌پاشی متانول در شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش موجب افزایش ۳۵/۳۸ و ۴۴/۲۴ درصدی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز نسبت به شرایط محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول تحت شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، اکسید ردوکتازهایی هستند که نقش بسیار مهمی را در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی و شوری دارند و همچنین در سم‌زدایی اشکال مختلف اکسیژن فعال شده در سلول اهمیت دارند که در هنگام بروز تنش موجب جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده، می‌شوند و با اکسیداسیون متفاوت در ساز و کار دفاعی شرکت می‌کنند (Mittler, 2002). پراکسیداز، به‌عنوان آنزیم تنش در گیاهان عالی، در برخی از فرآیندهای سلولی مانند سازوکار دفاعی میزبان، اتصال عرضی مونومرهای گلیکوپروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین موجود در دیواره سلولی، اتصال عرضی پلی‌ساکاریدهای پکتینی به‌وسیله اسیدهای فنولیک در دیواره سلولی و عمل چربی شدن و چوب پنبه‌ای شدن شرکت می‌کند (Reddy *et al.*, 2004). بسته شدن روزنه‌ها به‌عنوان یک پاسخ به محدودیت آبی است که موجب کاهش غلظت دی‌اکسیدکربن در مزوفیل برگ و در نتیجه تجمع NADPH است. در این حالت اکسیژن به‌عنوان یک پذیرنده جایگزین الکترون‌ها عمل می‌کند که منجر به تشکیل رادیکال‌های سوپراکسید می‌شود (Yordanov *et al.*, 2003). متانول با تبدیل به دی‌اکسیدکربن موجب افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن درون سلول‌های برگ شده و با انجام عمل فتوسنتز، منجر به مصرف NADPH تولید شده در زنجیره انتقال الکترون می‌شود. بدین ترتیب از تجمع آن در کلروپلاست سلول‌های برگ و تشکیل سوپراکسید جلوگیری می‌شود. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با محلول‌پاشی متانول در شرایط تنش خشکی را می‌توان به افزایش بیشتر فتوسنتز و کاهش تجمع NADPH نسبت داد (احمدپور و همکاران، ۱۳۹۵). حسین‌زاده و همکاران (۱۳۹۴) اظهار داشتند که کاربرد متانول در شرایط تنش خشکی با افزایش محتوای اسمولیت‌های سازگار (محتوای پرولین و قندهای محلول)، موجب کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ نخود شد. در این بررسی نیز به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی متانول در شرایط تنش خشکی با بهبود محتوای پرولین و قندهای محلول ضمن کاهش پراکسید هیدروژن برگ پرچم (جدول ۴)، موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) شد (جدول ۷).

### محتوای پرولین و قندهای محلول

اثر محلول‌پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم‌کنش دوگانه بر محتوای پرولین و قندهای محلول برگ پرچم در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). نتایج نشان داد که محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش موجب افزایش محتوای پرولین برگ پرچم (۱۲۵/۴۲ درصدی) نسبت به شرایط عدم محلول-

پاشی متانول تحت شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). بروجردنیا و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که تنش خشکی موجب افزایش محتوی پرولین و قندهای محلول شد. Diaz و همکاران (۲۰۰۵) دلیل افزایش پرولین در شرایط تنش را به افزایش فعالیت آنزیم پیرولین ۵-کربوکسیلات سنتتاز (که در مسیر بیوسنتز پرولین نقش دارد) و کاهش فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز (که در تخریب پرولین ایفای نقش می‌کند) نسبت دادند. علاوه بر این، تبدیل پرولین به گلوتامات نیز به- عنوان دلیلی دیگر برای کاهش میزان پرولین در سطوح پایین تنش ذکر شده است. تنش خشکی از دو راه موجب افزایش محتوی پرولین در گیاهان می‌شود، اولین راه افزایش سنتز آنزیم‌هایی است که موجب تحریک تولید پرولین می‌شود و دومین راه ممانعت از عمل آنزیم‌هایی است که پرولین را تخریب می‌کند (Rontein *et al.*, 2002). متانول محلول پاشی شده بر روی برگ توسط آنزیم متانول اکسیداز و با از دست دادن  $2H^+$  تبدیل به فرمات (متانوئیک اسید) می‌شود. فرمات در مرحله بعد توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به دی‌اکسیدکربن و  $H^+$  می‌شود (Nonomura and Benson, 1992). از طرف دیگر گزارش شده آنزیم پیرولین ۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) در شرایط اسیدی بیش‌ترین فعالیت را دارد (Yordanov *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد متانول با کاهش اسیدیته در گیاه منجر به افزایش فعالیت آنزیم پیرولین ۵-کربوکسیلات سنتتاز و در نهایت تجمع پرولین در برگ‌ها می‌شود. نتایج نشان داد محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش دارای بیش‌ترین محتوی قندهای محلول برگ پرچم (۸۳/۰۰۳ میلی‌گرم برگ‌گرم وزن تر برگ) بود. طوری‌که این ترکیب تیماری موجب افزایش ۹۱/۹۳ درصدی محتوی قندهای محلول برگ پرچم نسبت به شرایط عدم محلول پاشی متانول در شرایط آبیاری کامل شد (جدول ۷). Zhang و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که تنش آبی می‌تواند موجب افزایش قندهای محلول، افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و هیدرولیز نشاسته به قندهای ساده و کند شدن انتقال قندها از برگ به سایر مراکز رشد شود، همچنین با افزایش محدودیت آبی بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول افزوده می‌شود، بنابراین در اثر تنش خشکی میزان نشاسته کاهش اما قندهای محلول افزایش می‌یابد. طی تنش کم‌آبی به- دلیل تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول، سنتز این ترکیبات از مسیر غیرفتوسنتزی و متوقف شدن رشد، این ترکیبات در گیاه افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد از دیگر دلایل اثرگذار متانول بر محتوی قندهای محلول برگ این است که متانول از طریق تحت تاثیر قرار دادن متابولیسم گیاه موجب افزایش میزان قند می‌شود. همچنین متانول به سرعت به فرم آلدئید اکسیده شده و سپس تبدیل به فروکتوز ۶ فسفات می‌شود، این ترکیب نیز به ساکارز تبدیل می‌گردد و موجب افزایش میزان قند در گیاه می‌شود. متانول همچنین از طریق اثر گذاشتن روی گروه متیل‌پکتین، میزان قند را در گیاه تحت اثر قرار می‌دهد. افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در شرایط تنش می‌تواند به‌عنوان یک سیگنال متابولیکی به تنش خشکی عمل نماید و در بروز پاسخ‌های دفاعی نقش داشته باشد (Ramirez *et al.*, 2006).

**جدول ۳: تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی متانول و سطوح آبیاری بر محتوای کلروفیل، محتوای مالون‌دی‌آلدهید، پراکسید هیدروژن و درصد پروتئین برگ پرچم گندم**

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	مالون‌دی‌آلدهید
تکرار	۲	۰/۰۴۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۵ <sup>*</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۲ <sup>ns</sup>
سطوح آبیاری (I)	۲	۱/۴۵۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۷۴ <sup>ns</sup>	۲/۹۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳۹ <sup>ns</sup>
متانول (M)	۳	۰/۳۶۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۰ <sup>ns</sup>	۰/۶۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۹ <sup>ns</sup>
I×M	۶	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>*</sup>	۰/۰۱۰ <sup>*</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۳ <sup>ns</sup>
خطا	۲۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۱

ns, \*, \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

**جدول ۴: مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی متانول و سطوح آبیاری بر محتوای کلروفیل، محتوای مالون‌دی‌آلدهید و درصد پروتئین برگ پرچم گندم**

ترکیب تیماری	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	مالون‌دی‌آلدهید	پراکسید هیدروژن	درصد پروتئین
	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)		(میکرومول بر گرم وزن تر برگ)			(درصد)
I <sub>1</sub> ×M <sub>1</sub>	۱/۴۸۸ <sup>c</sup>	۵/۶۴۹ <sup>e</sup>	۰/۴۲۱ <sup>ab</sup>	۰/۱۰۷ <sup>c</sup>	۰/۳۲۰ <sup>ef</sup>	۱۱/۶۲۴ <sup>d</sup>
I <sub>1</sub> ×M <sub>2</sub>	۱/۵۱۱ <sup>c</sup>	۵/۸۸۴ <sup>c</sup>	۰/۴۲۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۰۴ <sup>e</sup>	۰/۲۹۷ <sup>g</sup>	۱۲/۳۷۸ <sup>c</sup>
I <sub>1</sub> ×M <sub>3</sub>	۱/۵۷۶ <sup>b</sup>	۶/۰۵۴ <sup>b</sup>	۰/۴۲۰ <sup>ab</sup>	۰/۰۹۴ <sup>f</sup>	۰/۲۸۲ <sup>h</sup>	۱۲/۹۴۲ <sup>b</sup>
I <sub>1</sub> ×M <sub>4</sub>	۱/۷۳۴ <sup>a</sup>	۶/۴۳۳ <sup>a</sup>	۰/۴۲۸ <sup>a</sup>	۰/۰۸۶ <sup>g</sup>	۰/۲۶۵ <sup>i</sup>	۱۴/۳۵۳ <sup>a</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>1</sub>	۱/۳۵۸ <sup>d</sup>	۵/۲۰۵ <sup>e</sup>	۰/۳۹۹ <sup>b</sup>	۰/۱۲۶ <sup>c</sup>	۰/۳۷۰ <sup>c</sup>	۱۰/۱۲۳ <sup>f</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>2</sub>	۱/۳۶۷ <sup>d</sup>	۵/۴۳۴ <sup>f</sup>	۰/۴۲۶ <sup>a</sup>	۰/۱۲۰ <sup>d</sup>	۰/۳۴۳ <sup>d</sup>	۱۰/۷۸۰ <sup>e</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>3</sub>	۱/۴۵۵ <sup>c</sup>	۵/۵۷۶ <sup>e</sup>	۰/۴۱۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۱۸ <sup>d</sup>	۰/۳۲۸ <sup>e</sup>	۱۱/۲۵۰ <sup>d</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>4</sub>	۱/۴۸۳ <sup>c</sup>	۵/۷۵۷ <sup>d</sup>	۰/۴۳۶ <sup>a</sup>	۰/۱۰۴ <sup>e</sup>	۰/۳۱۳ <sup>f</sup>	۱۲/۲۱۹ <sup>c</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>1</sub>	۱/۲۱۴ <sup>g</sup>	۴/۷۲۹ <sup>j</sup>	۰/۳۳۰ <sup>d</sup>	۰/۱۵۱ <sup>a</sup>	۰/۴۳۴ <sup>a</sup>	۹/۰۸۸ <sup>h</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>2</sub>	۱/۲۵۲ <sup>fg</sup>	۴/۹۱۰ <sup>i</sup>	۰/۳۶۳ <sup>c</sup>	۰/۱۳۳ <sup>b</sup>	۰/۳۸۸ <sup>b</sup>	۹/۳۷۰ <sup>gh</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>3</sub>	۱/۲۸۷ <sup>ef</sup>	۵/۰۳۷ <sup>h</sup>	۰/۴۰۰ <sup>b</sup>	۰/۱۳۱ <sup>b</sup>	۰/۳۸۲ <sup>b</sup>	۹/۶۵۲ <sup>g</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>4</sub>	۱/۳۴۵ <sup>de</sup>	۵/۳۵۱ <sup>f</sup>	۰/۴۳۳ <sup>a</sup>	۰/۱۲۱ <sup>cd</sup>	۰/۳۶۳ <sup>c</sup>	۱۰/۵۹۳ <sup>e</sup>
LSD	۰/۰۵۸	۰/۱۰۵	۰/۰۲۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۹	۰/۴۵

I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub>: به ترتیب آبیاری کامل، قطع آبیاری در مرحله سنبله‌دهی و شکم خوش.

M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> و M<sub>4</sub>: به ترتیب عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون LSD با هم ندارند.

**جدول ۵: مقایسه میانگین اثر ساده محلول‌پاشی متانول و سطوح آبیاری بر محتوای کلروفیل a پرچم گندم**

کلروفیل a	محلول‌پاشی متانول
(میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	
۳/۸۴ <sup>d</sup>	M <sub>1</sub>
۴/۰۳۳ <sup>c</sup>	M <sub>2</sub>
۴/۱۱۶ <sup>b</sup>	M <sub>3</sub>
۴/۳۲۶ <sup>a</sup>	M <sub>4</sub>
۰/۰۷۹	LSD
سطوح آبیاری	
۴/۴۲۷ <sup>a</sup>	I <sub>1</sub>
۴/۰۷۷ <sup>b</sup>	I <sub>2</sub>
۳/۷۳۳ <sup>c</sup>	I <sub>3</sub>
۰/۰۶۹	LSD

I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub>: به ترتیب آبیاری کامل، قطع آبیاری در مرحله سنبله‌دهی و شکم خوش.

M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> و M<sub>4</sub>: به ترتیب عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون LSD با هم ندارند.

جدول ۶: تجزیه واریانس اثر محلول پاشی متانول و سطوح آبیاری بر برخی صفات بیوشیمیایی گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پروکلین
تکرار	۲	۵۴/۱۹۲ <sup>**</sup>	۷۴/۹۶۰ <sup>**</sup>	۱۲۵/۴۵۶ <sup>**</sup>	۴۹۰/۴۹۸ <sup>**</sup>
سطوح آبیاری (I)	۲	۱۶۱/۰۵۴ <sup>**</sup>	۳۸۱/۹۱۱ <sup>**</sup>	۷۶۵/۹۸۸ <sup>**</sup>	۱۵۴۹/۱۰۶ <sup>**</sup>
متانول (M)	۳	۳۵/۲۵۶ <sup>**</sup>	۹۶/۳۴۵ <sup>**</sup>	۱۸۵/۶۶۴ <sup>**</sup>	۳۷۶/۸۷۸ <sup>**</sup>
I×M	۶	۳/۱۴۱ <sup>*</sup>	۶/۰۴۸ <sup>*</sup>	۱۳/۴۹۳ <sup>*</sup>	۱۷/۳۷۴ <sup>*</sup>
خطا	۲۲	۱/۲۲۲	۱/۹۷۴	۵/۱۲۱	۵/۷۰۳

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۷: مقایسه میانگین اثر متقابل محلول پاشی متانول و سطوح آبیاری بر فعالیت آنزیم‌های

آنتی اکسیدانی، محتوای پروکلین، قندهای محلول برگ پرچم و عملکرد دانه گندم

ترکیب تیماری	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پروکلین	قندهای محلول	عملکرد دانه
(تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه)	(میکروگرم بر گرم)	(میکروگرم بر گرم)	(میلی گرم بر گرم)	(وزن تر برگ)	(وزن تر برگ)	(گرم در مترمربع)
I <sub>1</sub> ×M <sub>1</sub>	۲۸/۱۷۴ <sup>c</sup>	۶۴/۷۱۷ <sup>ef</sup>	۷۵/۵۲۵ <sup>f</sup>	۳/۹۵۶ <sup>h</sup>	۴۳/۲۴۵ <sup>i</sup>	۶۳۸/۷ <sup>c</sup>
I <sub>1</sub> ×M <sub>2</sub>	۲۶/۰۷۶ <sup>d</sup>	۶۱/۲۵۴ <sup>g</sup>	۷۰/۸۶۰ <sup>g</sup>	۴/۶۲۴ <sup>g</sup>	۴۹/۷۵۰ <sup>h</sup>	۷۱۲/۵ <sup>b</sup>
I <sub>1</sub> ×M <sub>3</sub>	۲۴/۴۰ <sup>d</sup>	۵۸/۶۸ <sup>h</sup>	۷۰/۹۹۹ <sup>g</sup>	۵/۲۳۲ <sup>f</sup>	۵۷/۰۳۱ <sup>g</sup>	۷۵۸/۲ <sup>a</sup>
I <sub>1</sub> ×M <sub>4</sub>	۲۵/۱۵ <sup>d</sup>	۵۷/۶۸۹ <sup>h</sup>	۶۶/۹۴۳ <sup>h</sup>	۶/۰۵۵ <sup>e</sup>	۶۴/۴۷۸ <sup>ef</sup>	۷۶۲/۴ <sup>a</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>1</sub>	۳۱/۸۴۰ <sup>b</sup>	۶۸/۷۸۷ <sup>c</sup>	۸۲/۲۲۴ <sup>cd</sup>	۵/۵۲۳ <sup>f</sup>	۶۱/۱۲۶ <sup>f</sup>	۵۴۰/۳ <sup>ef</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>2</sub>	۳۰/۸۱۶ <sup>b</sup>	۶۴/۱۷۴ <sup>ef</sup>	۷۷/۵۲۲ <sup>ef</sup>	۶/۲۲۵ <sup>e</sup>	۶۵/۰۰۶ <sup>ef</sup>	۵۸۸/۱ <sup>d</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>3</sub>	۲۸/۷۶۸ <sup>c</sup>	۶۵/۹۹۴ <sup>de</sup>	۷۷/۱۱۷ <sup>ef</sup>	۶/۶۵۱ <sup>d</sup>	۶۷/۳۶۸ <sup>de</sup>	۶۵۵/۷ <sup>c</sup>
I <sub>2</sub> ×M <sub>4</sub>	۲۸/۲۳۸ <sup>c</sup>	۶۳/۰۴۹ <sup>fg</sup>	۷۴/۲۹۹ <sup>fg</sup>	۷/۲۶۰ <sup>bc</sup>	۷۲/۴۳۶ <sup>c</sup>	۷۴۶/۷ <sup>a</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>1</sub>	۳۷/۵۵۳ <sup>a</sup>	۷۸/۱۰۳ <sup>a</sup>	۹۶/۵۵۸ <sup>a</sup>	۶/۹۸۵ <sup>cd</sup>	۷۰/۰۴۳ <sup>cd</sup>	۵۱۸/۷ <sup>f</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>2</sub>	۳۲/۱۳۱ <sup>b</sup>	۷۱/۶۴۴ <sup>b</sup>	۸۶/۸۲۵ <sup>b</sup>	۷/۳۰۳ <sup>bc</sup>	۷۴/۰۰۵ <sup>c</sup>	۵۴۸/۴ <sup>e</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>3</sub>	۳۲/۱۱۸ <sup>b</sup>	۶۹/۹۱۷ <sup>bc</sup>	۸۴/۲۷۳ <sup>bc</sup>	۷/۴۴۳ <sup>b</sup>	۷۸/۰۸۳ <sup>b</sup>	۶۵۰ <sup>c</sup>
I <sub>3</sub> ×M <sub>4</sub>	۳۱/۲۸۴ <sup>b</sup>	۶۷/۷۰۰ <sup>cd</sup>	۸۰/۳۲۸ <sup>de</sup>	۸/۹۱۸ <sup>a</sup>	۸۳/۰۰۳ <sup>a</sup>	۷۰۶/۶ <sup>b</sup>
LSD	۱/۸۷۲	۲/۳۷۹	۳/۸۳۲	۰/۴۰	۴/۰۴	۲۹/۶۵۳

I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub>: به ترتیب آبیاری کامل، قطع آبیاری در مرحله سنبله دهی و شکم خوش.

M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> و M<sub>4</sub>: به ترتیب عدم محلول پاشی و محلول پاشی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول.

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری بر اساس آزمون LSD با هم ندارند.

### عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محلول پاشی متانول، سطوح آبیاری و اثر برهم کنش دو گانه بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۶). مقایسه میانگین‌ها نشان داد محلول پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط آبیاری کامل موجب افزایش ۴۶/۹۸ درصدی عملکرد دانه نسبت به عدم محلول پاشی تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم خوش شد (جدول ۷). فرم‌هینی فراهانی و همکاران (۱۳۹۶) علت کاهش عملکرد دانه گندم در شرایط محدودیت آبی را به کاهش تولید و انتقال مواد فتوسنتزی به دانه‌ها و متعاقب آن کاهش وزن هزار دانه نسبت دادند. به نظر می‌رسد متانول موجب افزایش غلظت دی‌اکسید کربن درون سلول‌های برگ شده که با انجام عمل فتوسنتز و ماده‌سازی بیشتر منجر به مصرف NADPH تولید شده در زنجیره انتقال الکترون می‌شود، که با کاهش تجمع آن در کلروپلاست سلول‌های برگ و

تشکیل سوپراکسید، موجب کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید برگ می‌شود (حسین‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴). از طرفی متانول به‌عنوان منبع کربنی برای گیاهان به شمار می‌آید، محلول‌پاشی گیاهان  $C_3$  با این ماده به‌دلیل کاهش تنفس نوری منجر به افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (Ehyaei et al., 2010). بدین صورت که متانول با به تعویق انداختن پیری برگ-ها، موجب فعالیت بیشتر فتوسنتزی گیاه شده و عملکرد را بهبود می‌بخشد (سوقانی و همکاران، ۱۳۹۰). امرایی و همکاران (۱۳۹۶) اظهار داشتند که محلول‌پاشی متانول در شرایط تنش خشکی با بهبود محتوای پرولین و قندهای محلول موجب کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و افزایش عملکرد دانه سویا شد. در این بررسی نیز به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی متانول تحت شرایط محدودیت شدید آبی (قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش) با افزایش محتوای اسمولیت‌های سازگار (محتوای پرولین و قندهای محلول) و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و محتوای مالون‌دی‌آلدهید برگ پرچم موجب بهبود محتوای کلروفیل برگ پرچم و شرایط فتوسنتزی گیاه شده است که در نهایت موجب افزایش عملکرد دانه شده است (جدول‌های ۴ و ۷).

### نتیجه‌گیری

محلول‌پاشی ۳۰ درصد حجمی متانول در شرایط قطع آبیاری در مرحله شکم‌خوش با افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول موجب کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدهید و افزایش محتوای کلروفیل برگ پرچم شد. افزایش محتوای اسمولیت‌های سازگار (محتوای پرولین و قندهای محلول) گیاه را قادر می‌سازد با حفظ تورژسانس سلول‌ها موجب بهبود جذب آب حتی در پتانسیل‌های پایین آب در خاک در شرایط محدودیت آبی شوند. از این رو به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی متانول در شرایط محدودیت آبی به‌دلیل بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌تواند روش مناسبی برای افزایش عملکرد دانه و تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی باشد.

### منابع

- احمدپور، ر.، آرمنند، ن.، حسین‌زاده، س.ر. و رژه، م. ۱۳۹۵. ارزیابی تاثیر محلول‌پاشی متانول بر برخی شاخص-های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی عدس (*Lens culinaris Medk*). تحت شرایط تنش کم‌آبی. پژوهش‌های حبوبات ایران. ۷ (۲): ۲۱۴-۲۰۲.
- امرایی، ب.، پاک‌نژاد، ف.، ابراهیمی، م.ع. و سبحانیان، ح. ۱۳۹۶. اثر محلول‌پاشی متانول و تنش خشکی بر عملکرد دانه و شاخص‌های رشد سویا (*Glycine max L.*). فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۹ (۳۴): ۱۲۹-۱۱۱.

- بروجردنیا، م.، بی‌همتا، م.ر.، عالمی‌سعید، خ. و عبدوسی، و. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول، نشت الکترولیت‌ها و محتوای نسبی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.). فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۸ (۲۹): ۲۳-۴۱.
- جعفرنژاد، ا.، آقایی، ح. و نجفیان، گ. ۱۳۹۲. صفات موثر بر عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی دوره زایشی. به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی. ۱ (۱): ۱۱-۲۲.
- حسین‌زاده، س.ر.، سلیمی، ا.، گنجعلی، ع. و احمدپور، ر. ۱۳۹۲. تاثیر محلول‌پاشی متانول بر ویژگی‌های فتوسنتزی، فلورسانس کلروفیل و محتوای کلروفیل نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش خشکی. زیست‌شناسی گیاهی ایران. ۵ (۱۸): ۱۱۵-۱۳۲.
- حسین‌زاده، س.ر.، سلیمی، ا.، گنجعلی، ع. و احمدپور، ر. ۱۳۹۴. اثر کاربرد متانول بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش خشکی. فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهی ایران. ۱ (۱): ۳۰-۱۷.
- سبک‌روفومنی، ک.، صفرزاده، م.ن. و دانشیان، ج. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر زمان و مقادیر محلول‌پاشی متانول بر عملکرد کمی و کیفی توتون گرم‌خانه‌ای رقم کوکر ۳۴۷ در منطقه احمد گوراب رشت. پژوهش‌های تولید گیاهی. ۱۸ (۳): ۱۷-۳۰.
- سرافراز اردکانی، م.ر. ۱۳۹۸. اثر سیتوکینین و براسینواستروئید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام گندم تحت تنش خشکی در مرحله زایشی. فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۱ (۴۳): ۲۴-۵.
- سوقانی، م.، پاکنژاد، ف.، نادعلی، ا.، الهی‌پناه، ف. و غفاری، م. ۱۳۹۰. اثر محلول‌پاشی متانول بر عملکرد و اجزای عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.). اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی و علف‌های‌هرز، ۵ (۱۷): ۷۹-۸۸.
- سیدشریفی، ر. و خلیل‌زاده، ر. ۱۳۹۶. مورفولوژی و مراحل رشد و نمو گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی. ۵۸۵ صفحه.
- فرمهینی فراهانی، م.، میرزاخانی، م. و ساجدی، ن. ۱۳۹۶. اثر مواد جاذب رطوبت روی برخی صفات زراعی و پروتئین دانه گندم در شرایط تنش کمبود آب. فن‌آوری تولیدات گیاهی. ۹ (۲): ۲۷-۳۷.
- قائم‌بایگی، م.، رائینی سرجاز، م. و موسوی بایگی، م. ۱۳۹۲. برآورد ضریب گیاهی و تبخیر-تعرق گندم رقم گاسکوژن در مشهد با استفاده از روش تراز انرژی. مهندسی آبیاری و آب. ۳ (۱۱): ۶۸-۵۸.

- نادعلی، ا.، پاک‌نژاد، ف.، مرادی، ف. و وزان، س. ۱۳۸۹. اثر متانول بر عملکرد و برخی خصوصیات کیفی چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) رقم رسول در شرایط تنش و بدون تنش خشکی. به‌زراعی نهال و بذر. ۲ (۲۶): ۹۵-۱۰۸.
- Albrecht, S.L., Douglas Jr, C.L., Klepper, E.L., Rasmussen, P.E., Rickman, R.W., Smiley, R.W., Wilkins, D.E. and Wysocki, D.J. 1995.** Effects of foliar methanol applications on crop yield. *Crop Science* 35: 1642-1646.
- Alexieva, V., Sergiev, I. Mapelli, S. and Karanov, E. 2001.** The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment* 24: 1337-1344.
- Amoah, J.N., Ko, C.S., Yoon, J.S. and Weon, S.Y. 2019.** Effect of drought acclimation on oxidative stress and transcript expression in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Interactions*. 14 (1): 492-505.
- Arnon, A.N. 1976.** Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Bradford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248.
- Diaz, P., Monza, J. and Marquez, A. 2005.** Drought and saline stress, *Lotus japonicas*. Haworth Press, Inc., San Diego.
- Dubios, M., Gilles, K.A. Hamilton, J.K. Roberts, P.A. and Smith, F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annals of Chemistry* 28: 350-356.
- Ehyaie, H.R., Parsa, M. Kafi, M. and Nasiri Mahalati, M. 2010.** Effect of foliar application of methanol and irrigation regimes on yield and yield components of chickpea cultivars. *Iranian Journal of Pulses Research* 1: 37-48.
- Hong, W. and Ji-Yan, J. 2007.** Effects of zinc deficiency and drought stress on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize (*Zea mays* L.). *Agricultural Science in China* 6 (8): 988-995.
- 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 (1): 87-92.
- Hossinzadeh, S.R., Ganjeali, A., Salami, 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.

**Khalilzadeh, R., Seyed Sharifi, R. and Jalilian, J. 2016.** Antioxidant status and physiological responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to cycocel application and bio fertilizers under water limitation condition. *Journal of Plant Interactions* 11 (1): 130-137.

**Lobato, A.K.S., Meirelles, A.C.S., Santos Filho, B.G., Costa, R.C.L., Oliveria Neto, C.F., Cruz, F.J.R., Freitas, J.M.N., Guedes, E.M.S., Barreto, A.G.T., Ferreira, A.S., Monteiro, B.S., Neves, H.K.B. and Lopes, M.J.S. 2008.** Consequences of the progressive water deficit and rehydration on nitrate reductase activity and nitrogen compounds in soybean (*Glycine max* cv. Sambaiba L.). *Research Journal of Agronomy* 23: 64-70.

**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.

**Masoumi, A., Kafi, M., Khazaei, H. R. and Davari, K. 2010.** Effect of drought stress on water status, electrolyte leakage and enzymatic antioxidants of *Kochia scoparia* under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany* 42 (5): 3517-3524.

**Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405-410.

**Nonomura, A.M. and Benson, A.A. 1992.** The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yields with methanol. *National Academy Science* 89: 9794-9798.

**Orabi, S.A., Salman, S.R. and Shalaby, A.F. 2010.** Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences* 6: 252-259.

**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.

**Ramirez, I., Dorta, F., Espinoza, V., Jimenez, E., Mercado, A. and Pen a Cortes, H. 2006.** Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of *Arabidopsis*, tobacco and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 25: 30-44.

**Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanadan, M.V. 2004.** Drought-induced responses of photosynthesis and Antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.

**Rontein, D., Basse, T.G. and Hasont, A.D. 2002.** Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic Engineering* 4 (1): 49-56.

**Shao, H.B., Chu, L.Y., Lu, Z.H. and Kang, C.M. 2008.** Primary antioxidant free radical scavenging and redox signalling pathways in higher plant cells. *International Journal Biology Science* 4: 8-14.

**Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012.** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 10: 37-53.

**Soares, C., Carvalho, M.E.A., Azevedo, R.A. and Fidalgo, F. 2019.** Plants facing oxidative challenges-a little help from the antioxidant networks. *Environmental and Experimental Botany* 61: 4-25.

**Stewart, R.C. and Beweley, J.D. 1980.** Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology* 65: 245-248.

**Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara Kumar, S. 2001.** Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 167: 613-619.

**Tahkokorpi, M. 2010.** Anthocyanins under drought and drought-related stresses in blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Acta Universitatis Ouluensis: A Scientiae Rerum Naturalium* 556: 1-46.

**Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev, T. 2003.** Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgharestan Journal of Plant Physiology* 2: 187-206.

**Zafari, S., Niknam, V., Musetti, R. and Noorbakhsh, S.N. 2012.** Effect of phytoplasma infection on metabolite content and antioxidant enzyme activity in lime (*Citrus aurantifolia*). *Acta Physiologiae Plantarum* 34 (2): 561-568.

**Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. and Xia, X.J. 2010.** Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. *Plant Science* 179 (3): 202-208.

**Zhang, M., Jin, Z.Q., Zhao, J., Zhang, G.P. and Wu, F.B. 2015.** Physiological and biochemical responses to drought stress in cultivated and Tibetan wild barley. *Plant Growth Regul* 75: 567-574.

**Zhao, G., Xu, H., Zhang, P., Su, X. and Zhao, H. 2017.** Effects of 24-epibrassinolide on photosynthesis and Rubisco activase gene expression in *Triticum aestivum* L. seedling under a combination of drought and heat stress. *Plant Growth Regulation* 8 (3): 377-384.

**Zheng, Y.J., Yang, Y.Q., Liang, S.S. and Yi, X.F. 2008.** Effect of methanol on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of flag leaves of winter wheat. *Agricultural Sciences in China* 7: 432-437.

## Effect of methanol on antioxidant enzymes activity, some compatible osmolytes and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under irrigation withholding conditions

H. Narimani<sup>\*1</sup>, R. Seyed Sharifi<sup>2</sup> and F. Aghaei<sup>3</sup>

- 1) Ph.D. students respectively, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
- 2) Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
- 3) MS.c students respectively, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

\* Corresponding author: hamed.narimani.72@gmail.com

Received date: 2020.02.22

Accepted date: 2020.06.15

### Abstract

In order to study the effect of methanol on antioxidant enzymes activity, some compatible osmolytes and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under irrigation withholding conditions, an experiment as factorial was conducted based on randomized complete block design with three replications at the research farm of faculty of Agriculture and Natural Resources of University of Mohaghegh Ardabili, during 2015-2016 cropping season. Factors experiment were included irrigation levels (full irrigation as control, irrigation withholding in 50% of heading and booting stages as moderate and severe water limitation respectively, according with 55 and 43 BBCH code) and four methanol levels (foliar application with water as control and foliar application 10, 20 and 30% volume of methanol). The results showed that foliar application of 30% volume of methanol under full irrigation conditions increased 42.83, 36.01, 29.69, 57.93 and 49.98% of chlorophyll b content, total chlorophyll, carotenoids, protein percentage and grain yield and decreased hydrogen peroxide and malondialdehyde content (75.85% and 61.94% respectively) in comparison with non-foliar application under full irrigation. Foliar application of 30% volume of methanol under irrigation withholding in booting stage increased proline and soluble sugars content (125.42% and 91.93%, respectively) in comparison with non-foliar application of methanol under full irrigation conditions. Also, foliar application of 30% volume of methanol under full irrigation conditions decreased antioxidant enzymes activity (catalase, peroxidase and polyphenol oxidase). It seems that foliar application of 30% volume of methanol can increase grain yield of wheat under irrigation withholding conditions due to improving biochemical traits.

**Keywords:** Drought Stress, Proline, Malondialdehyde and Chlorophyll Content.