نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۸، شماره۳ ، مرداد - شهریور ۱۳۸۹، ص ۵۴۱-۵۳۱

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 8, No. 3, July – Aug. 2010, p. 531-541

بررسی تأثیر تنش کم آبی و محلول پاشی متانول بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوای آب نسبی سلول و محتوای کلروفیل برگ سویا (*Glycine max* L., var. L 17)

مجتبی میرآخوری[1*] - فرزاد پاک‌نژاد[2]- فواد مرادی[3]- محمد رضا اردکانی[4]- پریسا ناظری [5]- محمد اسماعیل پور جهرمی[6]

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۵
تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۲۲

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش کم آبی و متانول بر محتوای آب نسبی سلول، نشت یونی، میزان تغییرات فلورسانس سریع کلروفیل و محتوای کلروفیل سویا، آزمایش مزرعه ای بصورت فاکتوریل و درقالب طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی در ۳ تکرار در سال زراعی ۱۳۸۷ در مزرعه پژوهشی دانشگاه آزاد کرج اجرا شد. فاکتور اول در ۶سطح که یک تیمار شاهدM0 (بدون مصرف متانول) وتیمارهای M1، M2، M3، M4، M5 به ترتیب محلولهای ۳۵،۲۸،۲۱،۱۴،۷ درصد حجمی و با ۳ بار در فصل رشد با فواصل ۱۲ روز یکبار بر روی قسمتهایی هوایی بوته های سویا محلول پاشی شدند. تنش خشکی بعنوان فاکتور دوم در ۲ سطح ۷۰٪ و۴۰٪ درصد تخلیه رطوبت حجمی اعمال گردید. صفاتی نظیر عملکرد دانه، محتوای آب نسبی سلول، نشت یونی، میزان تغییرات فلورسانس سریع کلروفیل و محتوای کلروفیل سویا اندازه‌گیری شدند. اندازه گیری صفات ذکر شده قبل و بعد از محلول پاشی سوم انجام گرفت. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر کلروفیل، عملکرد دانه، نشت یونی بعد از محلول پاشی، پارامترهای ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم II، حداکثر فلورسانس، فلورسانس متغیر در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد. مقایسه میانگین ها نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی مقدار ظرفیت فتوشیمیای PS II، کلروفیل و محتوای آب نسبی سلول، کاهش و میزان حداقل فلورسانس افزایش و نشت یونی افزایش داشت. همچنین اثر محلول پاشی بر کلروفیل، عملکرد دانه، پارامترهای ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم دو، حداکثر فلورسانس، فلورسانس متغیر، محتوای آب نسبی سلول در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد. پارامترهای حداکثر فلورسانس، ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم II و محتوای آب نسبی قبل از محلول پاشی، محتوای آب نسبی بعد از محلول پاشی، کلروفیل بعد از محلول پاشی همبستگی مثبت و بالایی را با عملکرد دانه نشان دادند. اثر متقابل فاکتورهای مورد بررسی معنی دار نشد.

واژه های کلیدی: تنش، متانول، پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوای آب نسبی سلول، محتوای کلروفیل برگ

مقدمه

بطور کلی، خشکی یکی از عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی در مناطق کم آب می باشد. بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش خشکی،کاهش میزان فتوسنتز با اختلال در واکنش های بیوشیمیایی همراه می‌باشد (۲۲ و ۲۸). فتوسیستم دو (PS II) بسیار حساس به عوامل بازدارنده محیطی بوده و تنش خشکی موجب خسارت به مراکز واکنش PS II می‌شود. واکنش شیمیایی فتوسیستم دو به شدت تحت تأثیر آب قرار می‌گیرند (۳۳). وقتی که روزنه ها به علت تنش خشکی و یا دمای زیاد بسته می‌شوند،دی اکسیدکربن قابل دسترس کاهش یافته، بنابراین انتقال الکترون در اثر محدودیت دی اکسیدکربن کاهش می یابد و درنتیجه قدرت آسیملاسیون محدود می‌شود (۲۹) از طرف دیگر بسته بودن روزنه ها موجب افزایش دمای برگ و گیاه گردیده و در نتیجه آن فرایند نوری محدود می‌شود (۹). بااستفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل می‌توان بین دو

۱و ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد کرج و عضو باشگاه پژوهشگران جوان
۲- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد کرج
(*- نویسنده مسئول: Email: mojtaba.mirakhori@yahoo.com)
۳-عضو هیات علمی موسسه بیوتکنولوژی کرج، دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد کرج
۵- استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد ورامین
۶- دانشجوی دکتری زراعت پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

فرایند سوخت و ساز و انرژی سازکه تحت تأثیر تنش های گرمایی و خشکی قرار دارند، را مشخص نمود (۸، ۹ و ۳۹). اندازه گیری میزان فلورسانس کلروفیل در مزرعه نشان دهنده واکنش واقعی دستگاه فتوسنتزی است که تحت شرایط طبیعی بیشتر محدود شده است (۹ و ۱۱) یکی از پارامتر های مهم در تکنیک سریع فلورسانس کلروفیل، فلورسانس متغیر (F_V) است که به صورت F_M- F_o بدست می‌آید. نسبت فلورسانس متغییر به حداکثر فلورسانس (F_V/F_M) نشان دهنده پتانسیل یا حداکثر عملکرد کوانتوم PSII می‌باشد (۱۲). شیب کاهشی F_V/F_M شاخص خوبی جهت ارزیابی بازدارندگی نوری گیاهانی است که در مجاورت تنش های محیطی مثل خشکی و گرما همراه با میزان تشعشع زیاد قرار می‌گیرند (۳، ۴، ۱۸ و ۲۰). اخیراً محققین به دنبال ترکیباتی هستند که بتواند سبب افزایش غلظت دی کسید کربن در گیاهان و موجب تثبیت عملکرد در آنها شود. تحقیقات سالهای اخیر نشان داده است که رشد و عملکرد گیاهان C_3 با محلول پاشی متانول افزایش پیدا می کند و متانول به عنوان یک منبع کربن برای این گیاهان محسوب می شود. در گیاهان C4 به علت متفاوت بودن ساختار درونی برگ و غنی‌سازی CO_2 در سلول مزوفیل افزایش CO_2 از طریق محلول‌پاشی متانول اثر زیادی در عملکرد نداشته است. یکی از راهکارهای افزایش غلظت دی کسید کربن در گیاهان استفاده از ترکیباتی نظیر متانول اتانول، پروپانول، بوتانول و همچنین استفاده از اسیدهای آمینه گلیسین، گلوتامات و اسپارتات می‌باشد (۳۶ و ۴۵). برای اولین بار در اوایل دوره ۹۰ میلادی گزارش شد که کاربرد محلولهای متانول روی قسمت های هوایی گیاهان زراعی باعث افزایش عملکرد، تسریع رسیدگی، کاهش اثر تنش خشکی و کاهش نیاز آبی آنها می شود (۳۶). برخی از بررسی هایی که تاکنون در زمینه اثر مثبت محلول پاشی متانول بر رشد و عملکرد گیاهان صورت گرفته است، نشان داده اند که مصرف تیمارهای متانول در بوته هایی از گیاهان زراعی دارای کمبود آب هستند، باعث افزایش بیوماس آنها می گردد در حالی که تیمار کردن گیاهان زراعی دارای آب کافی با متانول، بیوماس آنها را کاهش می دهد(۳۶،۴۵،۴۱،۴۲). با توجه به اینکه ۲۵٪ از کربن گیاه صرف تنفس نوری می‌شود با استفاده از محصول‌پاشی متانول می‌توان مقدار تنفس نوری را به حداقل رساند (۳۶). علت این امر جذب متانول در گیاه و متابولیزه شدن سریع آن به دی اکسید کربن در بافت گیاهی است (۴۴)که ناشی از کوچکی مولکول‌های متانول نسبت به CO_2 است. در گیاهانی که با تنش خشکی مواجه هستند محلول پاشی متانول سبب جلوگیری از کاهش بیوماس در آنها می‌شود (۴۵ و ۳۶). بطور کلی نقش عمده‌ایی که این مواد دارند، جلوگیری از کاهش اثر تنش‌های القا شده به گیاهان زراعی در انجام تنفس نوری آنهاست (۳۶). عمده ترین منبع تولید متانول در گیاهان، دمتیلاسیون پکتین سلولی آنهاست. افزایش غلظت متانول در بافت های گیاهی با تحریک ژن پکتین متیل استراز سبب بزرگ شدن برگ می‌شود. این ژن سبب دسترسی بیشتر گیاه به کلسیم به منظور افزایش سطح برگ می‌شود (۴۲). روی برگ اکثر گیاهان باکتریهایی همزیست بنام باکتریهای متیلوتروفیک زندگی می‌کنند. این باکتریها در ازای دریافت متانول که از برگ گیاه خارج می‌شود پیش ماده ساخت بعضی از هورمونها مانند اکسین و سایتو کنین را که در رشد و توسعه ی برگها نقش مهمی دارند را در اختیار گیاه قرار می‌دهد و این باکتریها برمتابولیسم نیتروژن در گیاهان نیز از طریق تولید اوره باکتریائی در ارتباط می‌باشند. رابینسون و جونز (۴۳) اعلام کردند گلایسین در مقاومت به تنش دارایی نقش موثری است.نقش محافظتی گلایسین فقط به تنش محافظتی اسمزی آن خلاصه نشده بلکه در دیگر اثرات فیزیولوژیکی موثر در پاسخ به تنش های گیاهان مطرح است (۴۳). محلول پاشی متانول توسط صفرزاده ویشگاهی (۳۶) بر روی بادام زمینی نشان داد محلول‌پاشی ۲۰٪ حجمی متانول سبب افزایش شاخص سطح برگ، سرعت رشد گیاه، سرعت رشد غلاف، راندمان مصرف نششع، افزایش عملکرد غلاف و دانه، افزایش وزن ۱۰۰ دانه، افزایش تعداد غلاف رسیده و مقدار پروتئین در دانه‌ی بادام زمینی شده است. محلول‌پاشی متانول همچنین باعث تأخیر پیری در برگ‌ها اثر بر روی اتیلن می‌شود که این امر می‌تواند سبب طولانی شدن دوره‌ی فعال فتوسنتزی گیاه شود (۲۳). همچنین محلول‌پاشی متانول سبب افزایش ۱۶ تا ۲۲٪ عملکرد در سویا می‌شود که علت این افزایش عملکرد، افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه در مرحله‌ی رشد زایشی با افزایش مقدار CO_2 است. نتایج تحقیقات جاکوموهان (به نقل از ۳۶) روی سویا نشان داده است که تیمار متانول نسبت به دیگر مواد غذایی اضافه شده اثر بسیار مفیدتری دارد. اغلب در منابع دیده می‌شود که از تکنیک اندازه گیری فلورسانس به همراه روش های دیگری مثل محتوای کلروفیل،محتوای رطوبت نسبی که ممکن است مقاومت به خشکی را نشان دهند، استفاده می‌شود (۳۲ و ۱۹). پس ارکی و همکاران (۴۰) بیان می‌دارد که دوام فتوسنتز و حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش از جمله شاخص های فیزیولوژیکی تحمل خشکی است. محلول پاشی متانول بر روی گیاهان دارای کمبود آب باعث افزایش غلظت کلروفیل در برگهای آنها می‌شود،در حالی که در گیاهان دارای آب کافی که با متانول تیمار شدند،مقدار کلروفیل کمی کاهش پیدا می‌کند (۳۶، ۴۵ و ۴۹). محلول پاشی متانول بر روی بوته‌های توتون باعث افزایش میزان محتوای کلروفیل در برگها شد (۴۲). محلول پاشی متانول بر روی بوته های فلفل نیز مقدار کلروفیل را افزایش می‌دهد (۳۴). راجالا (۴۴) نیز افزایش مقدار کلروفیل را در بسیاری از گیاهان زراعی گزارش کرده اند. در مقابل لای و همکاران (۲۸) اعلام کردند که مقدار کلروفیل برگ بوته های سویا در اثر محلول پاشی تغییر به خصوصی پیدا نکرده است. کاهش محتوای

کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده است و حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند (۱۴). کاستیرلو و همکاران (۱۴) نیز همبستگی مثبتی را بین محتوای آب نسبی برگ و غلظت کلروفیل مشاهده کردند. پایداری غشاء نیز ابزاری در جهت اندازه گیری میزان مقاومت در برابر تنش های محیطی و از جمله خشکی مطرح می‌باشد (۲، ۱۳و ۳۲). پژوهش های به عمل آمده نشان داده است ارقامی که تنش یونی کمتری دارند، به خشکی متحمل تراند و در اثر اسیب پذیری غشاء سیتوپلاسمی محتویات سلول به بیرون تراوش کرده که مقدار این خسارت را می‌توان با اندازه گیری مقدار نشت یونی تعیین نمود (۲). به نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش به علت تولید رادیکالهای آزاد باشد که باعث پراکسیداسیون این رنگیزها و در نتیجه تجزیه ان می‌شود. در نتیجه این تحقیق با هدف تعیین بهترین غلظت متانول و بررسی اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی متانول و ارزیابی کارایی فلورسانس کلروفیل گیاه سویا به تنش خشکی و محلول پاشی متانول به مرحله اجرا در آمد.

مواد و روش ها

این مطالعه در سال زراعی ۱۳۸۷ در کرج (ماهدشت) واقع در ۳۵درجه و ۴۵ دقیقه عرض شمالی و ۵۱درجه و ۶ دقیقه طول شرقی به ارتفاع ۱۳۱۳ متر از سطح دریا در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی کرج به مرحله اجرا در آمد. منطقه ماهدشت دارای اقلیم نیمه خشک و متوسط بارندگی سالانه آن ۲۷۵ میلیمتر است. بافت خاک لومی رسی با PH = ۷/۶ و شوری در عمق ۳۰-۰ سانتی متری خاک برابر ۵/۵۵ (ds/m) بود. این تحقیق بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک ها کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول در ۶ سطح که یک تیمار شاهد(M0) بدون مصرف متانول و M5,M4,M3,M2,M1 به ترتیب محلول های ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵ درصد حجمی متانول بودند. فاکتور دوم تنش خشکی در دو سطح T1 و T2 آبیاری پس از ۷۰ و۴۰درصد تخلیه رطوبت حجمی بودند. محلول پاشی بوته ها، سه بار در طی فصل رشد و به فاصله ۱۵روز یکبار نسبت به یکدیگر انجام گرفت. اولین محلول پاشی در ۲۵ تیرماه ۶۰روز پس از کاشت و محلول پاشی های دیگر در۷۵ و ۹۰ روز پس از کاشت انجام شد. هر کرت شامل ۶ خط کاشت بطول ۵ متر که فاصله ردیف ها ۶۰ سانتی متر و فاصله بوته ها روی ردیف ۱۰ سانتی متر بودند. برای جلوگیری از نشت آب بین کرت ها دو ردیف بصورت کاشته نشده گذاشته شد. تهیه زمین شامل شخم اصلی، دو دیسک عمود بر هم و لولر بودند. پس از اماده نمودن زمین بر اساس نتایج تجزیه خاک (عمق۰-۳۰) به مقدار ۵۰ کیلوگرم سوپرفسفات تیریپل و ۶۰ کیلوگرم کود اوره در یک مرحله ودر زمان قبل از کاشت مصرف شد. بذرهای سویا ضد عفونی شده، در تاریخ ۸۷/۲/۱۴ بطور دستی در عمق ۵ سانتی متری کشت شدند. جهت اندازه گیری میزان فلورسانس کلروفیل، ۲۴ ساعت قبل و بعد از محلول پاشی سوم از ۱۰/۳۰ دقیقه صبح تا ساعت ۱۳/۳۰ دقیقه بعد از ظهر اندازه گیری صورت گرفت. برای این منظور از دستگاه Flourscence,Pam 2000, Waltz Germany قابل حمل استفاده شد که در ابتدا دو گیره مخصوص پس از اطمینان از بسته بودن دریچه های آنها در دو برگ کامل سوم و چهارم از بالای بوته، در ردیف دوم کاشت هر کرت، بطوریکه از رگبرگ اصلی فاصله داشتند، نصب گردیدند. گیره‌ها به فیبر نوری دستگاه متصل گردید و دریچه گیره ها باز شدند و با روشن نمودن دستگاه نور مدوله شده ۶۹۵ نانومتر از طریق فیبر نوری به برگ تابیده شد و پارامترهای فلورسانس از قبیل فلورسانس اولیه (F0)، حداکثر فلورسانس (F_M)، فلورسانس متغیر (F_V) پتانسیل عملکرد (FV/FM)،عملکرد کوانتوم (YEILD) کاهش فتوشیمیایی (QP) کاهش غیر فتوشیمیایی (QN)، یادداشت برداری شدند. سطح نور (PFD سطح جریان فوتون) ۴۰۰ میکرو فوتون در متر مربع در ثانیه و زمان تابیدن نور ۵ ثانیه برای تمام تیمارها انتخاب شد.جهت اندازه گیری محتوای کلروفیل، برگ ها بعد از انتقال از مزرعه در آزمایشگاه به روش فروس و آرکوسیوا (به نقل از ۴۹) محتوای کلروفیل اندازه گیری شد. دراین روش بعد از عصاره گیری ازبرگ میزان نور جذب شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۴۷ و۶۶۳ نانومتر قرائت گردید وتوسط معادلات ۱تا ۳ محتوای کلروفیل محاسبه شدند.

$$Chl.a(mg/L^{-1})=(12/25*A_{663}) -(2/79*A_{647})*D \quad (۱)$$

$$Chl.b(mg/L^{-1})=(21/5*A_{663})-(5/1*A_{647})*D \quad (۲)$$

$$Chl.a+b(mg/L^{-1})=(7/15*A_{663}) + (18/71*A_{647})*D \quad (۳)$$

که در آنها ChL.a+b,ChL.b,ChLa به ترتیب محتوای کلروفیل b,a و مجموع کلروفیل a+b و بر حسب میلی گرم در لیتر، A :میزان جذب نور توسط عصاره در طول موجهای مربوطه D = ضخامت خارجی کوت دستگاه اسپکتروفتومتر بر حسب سانتی متر است.برای تبدیل mg/L^{-1} به متر مربع از معادله ۴ استفاده می‌گردد.

$$PC(mg.m^{2})=(V/1000\times 1/A)\times ChL(mg.L^{-1}) \quad (۴)$$

که در آن PC= محتوای کلروفیل برگ پرچم بر حسب میلی گرم در متر مربع، V= حجم استون ۸۰٪ مورد استفاده، A= مساحت برگ مورد استفاده بر حسب متر مربع، ChL= محتوای کلروفیل بدست آمده از معادلات ۱تا ۳ بر حسب میلی گرم در لیتر است. میزان محتوای رطوبت نسبی و کمبود اشباع سلول از طریق معادلات زیر بدست آمد: (۳۹)

$$\%\ RWC = \frac{F_w - D_w}{S_w - D_w} \times 100 \quad (۵)$$

$$\%WSD = S_W - F_W / S_W - D_W \quad (۶)$$

F_W = وزن تر برگ، D_W= وزن خشک برگ، S_W= وزن اشباع برگ

پس از بدست آوردن مقدار کلروفیل(a+b) و مقدار Spad که توسط دستگاه SPAD اندازه گیری شده بود همبستگی بین مقدار کلروفیل (a+b) و مقدار SPAD بدست آمد که از طریق قرار دادن مقدار Spad سنجش شده از هر کرت بجای x معادله مقدار مجموع کلروفیل (a+b) بدست آمد. در این آزمایش معادله ی رگرسیونی بین مقدار SPAD و محتوای کلروفیل قبل و بعد از محلول پاشی سوم متانول عبارتند از :

$Y=8.345x+31.075 \quad R^2=0.951 \quad (۷)$

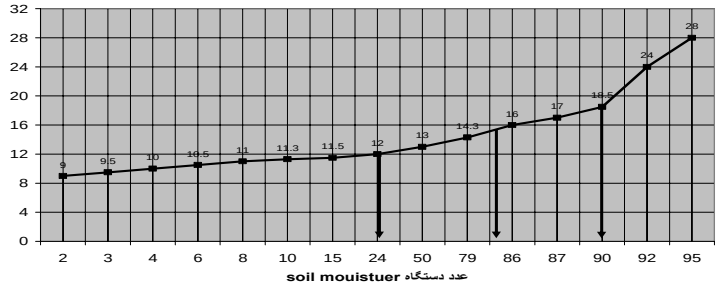
$Y=7.479x+51.6 \quad R^2=0.959 \quad (۸)$

به منظور اندازه گیری پایداری غشاء سیتوپلاسمی از قسمت سوم برگ (۱۰ سانتی متر سوم) ۲ دیسک با مساحت یکسان و مشخص (مساحت) دور از محل رگبرگ ها تهیه گردید و سپس این دیسک ها در ظروف در داری که محتوی محلول مانتیول با فشار اسمزی ۲- بار بودند قرار داده شدند. دیسکها به مدت ۲۴ ساعت در محلول مانیتول غوطه ور ماندند و سپس مقدار هدایت الکتریکی محلولها به وسیله دستگاه میکرو ECمتر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرائت گردید. اندازه گیری پایداری غشاء سیتوپلاسمی، محتوای کلروفیل، محتوای رطوبت نسبی و کمبود اشباع سلول در دو مرحله، یعنی یک روز قبل و بعد از محلول پاشی سوم انجام گرفت. به منظور اعمال تیمار تنش خشکی در تیمارهای مختلف بلوکهای گچی که قبلا مورد آزمون واسنجی قرار گرفتند نصب شدندو با توجه به منحنی کالیبراسیون بلوک‌های گچی که قبلا توسط پاک نژاد و همکاران (۳۹) بدست آمد، هرزمان دستگاه رطوبت سنج (Soil moisture) اعداد ۹۰،۵۰ را نشان می‌داد، بطور قراردادی یک روز پس از قرائت اعداداقدام به آبیاری تیمارهای مربوطه گردید. آبیاری به روش نشتی اجرا و تمامی تیمارها تا ظهور پنجمین و ششمین برگ (V5 , V6) بطور کامل ابیاری شده اند. تجزیه واریانس و محاسبات آماری صفات مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد بررسی از طریق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

تأثیر تنش خشکی بر عملکرد، محتوای کلروفیل، رطوبت نسبی، نشت یونی و پارامترهای فلورسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) نشان داد که تنش خشکی بر روی پارامترهای ظرفیت فتوشیمیای فتوسیستم دو (FV/FM)،محتوای اب نسبی مرحله دوم (RWC) نشت یونی (EC) مرحله دوم،محتوی کلروفیل مرحله دوم، و عملکرد دانه در سطح احتمال ۵٪ و بر پارامترهای فلورسانس متغیر (F_V)، حداکثر فلورسانس (F_M) در سطح احتمال۱٪ معنی دار شد،درصورتی که برنشت یونی مرحله اول،کمبود آب اشباع(WSD)، فلورسانس اولیه F۰ ، محتوای اب نسبی مرحله اول، عملکرد کوانتوم (YEILD)، کاهش فتوشیمیای(QP)، کاهش غیر فتوشیمیای (QN) اثر معنی داری نداشت. نتایج نشان داد که (جدول_ ۲) بیشترین عملکرد مربوط به تیمار T1 (۴۰٪ تخلیه رطوبتی) با ۱۷۱۵ کیلو گرم در هکتار (شکل_۱)و تیمار T2 (۷۰٪تخلیه رطوبت) با کمترین مقدار عملکرد دانه معادل میانگین ۱۴۳۸.۹۸ کیلو گرم در هکتار بود.از طرفی تیمار T1(۴۰٪ تخلیه رطوبتی) نسبت به تیمار T2 (۷۰٪تخلیه رطوبت) ۱۶.۴٪ افزایش عملکرد از خود نشان داد.با توجه به اینکه اعمال تنش خشکی از همان مراحل اولیه رشد (۶ برگ سه برگچه V6) شروع شد بدیهی است که تیمار T2 کمترین مقدار آب دریافتی را نسبت به تیمار (۴۰٪ تخلیه رطوبتی) داشته باشد، به همین دلیل تنش خشکی باعث کاهش در اجزایی عملکرد از قبیل بیوماس عملکرد دانه ارتفاع و تعداد شاخه فرعی شده است.



شکل۱ _ منحنی رطوبتی خاک و تغییرات هدایت الکتریکی بلوک های گچی پاک نژاد و همکاران (۳۹)

این نتایج با نتایج دانشیان (۱۷) که در مطالعات خود اعلام نمودند با افزایش شدت تنش مقدار عملکرد سویا کاهش پیدا می کند اما عامل اصلی در کاهش عملکرد در شرایط تنش،کاهش مقدار دانه در غلاف به علت ریزش گل به هنگام گلدهی بوده است، مطابقت دارد..همچنین مقایسه میانگین نشان داد که نشت یونی (EC)مرحله دوم با محتوی کلروفیل مرحله دوم در گروه های آماری متفاوتی قرار گرفتند،به طوری که با افزایش سطح تنش کمترین میزان کلروفیل ab مربوط به تیمار $T_۲$ (۷۰٪تخلیه رطوبت) و کمترین میزان نشت یونی (EC) مربوط به تیمار (۴۰٪ تخلیه رطوبتی)می باشد (جدول۲). در شرایط آبیاری کامل (شاهد) محتوای کلروفیل برگ در سطح بالایی قرار داشت و بیشترین میزان نشت یونی (EC)مربوط به تیمار $T_۲$(۷۰٪تخلیه رطوبت) بود.که با نتایج شی بارو و همکاران (به نقل از ۳۹) و چن و همکاران (۱۵) مطابقت داشت. این محققین اظهار نمودند که با افزایش سطح تنش میزان کلروفیل کاهش پیدا می‌کند. نشت یونی مرحله دوم در تیمار(۴۰٪ تخلیه رطوبتی) بیشتر از T_2 (۷۰٪تخلیه رطوبت) بود که احتمالا نشان دهنده این موضوع است که گیاه توانسته تا حد خوبی تنش را در سطح سلول کنترل نماید و از آنجایی که نشت یونی با پایداری غشاءسیتوپلاسمی رابطه عکس دارد، بنابراین تیمار(۴۰٪ تخلیه رطوبتی) از میزان پایداری غشاءبیشتری نسبت به T_2 (۷۰٪تخلیه رطوبت) برخوردار است. تیمار ۷۰٪ تخلیه رطوبت موجب کاهش چشمگیر محتوی کلروفیل گردید. در واقع محتوای کلروفیل برگ و پایداری غشاء سیتوپلاسمی به افزایش سطوح تنش خشکی واکنش نشان داده بطوریکه کمترین مقدار کلروفیل مربوط به تیمار T_2 (۷۰٪تخلیه رطوبت) می باشد که با نتایج پاکنژاد و همکاران (۳۹)، آروس و همکاران (۹) مطابقت دارد. در مورد نحوه اعمال تنش در صورتی که تنش های شدید و طولانی مدت اعمال شود بطور حتم مقدار کلروفیل کاهش پیدا می‌کند، همان گونه که در اعمال تنش شدید در آزمایش پور موسوی (۴) نتایج مشابه دیده شد و به نظر می‌رسد افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنش ملایم در اثر افزایش وزن مخصوص برگ می‌باشد. وقوع تنش میزان سطح برگ را کاهش دمی‌دهد که ناشی از کاهش اندازه سلول است. بنابراین در طی بروز تنش ملایم به دلیل وجود سلول های بزرگتر در واحد وزن برگ، میزان کلروفیل آن نیز افزایش می‌یابد (۱،۴۶،۳۱). پور موسوی و همکاران (۴) اظهار داشتند که تنش خشکی موجب افزایش مقدار عدد اسپاد گردید اما اثری بر عملکرد فتوشیمیای فتوسیستم ۲ ندارد. در مقابل باراکلوف و کیت بیان کردند که تنش خشکی میزان عدد اسپاد را در گندم افزایش می‌دهد (به نقل از۹). تایز و زایگر (۴۶) بیان کردند احتمالا در شرایط تنش ملایم با کاهش سطح برگ،غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ افزایش می‌یابد، بطور کلی تأثیر تنش آب بر کلروفیل بسیار متنوع است وبستگی به شرایط محیطی و ژنوتیپی گیاهان دارد. در بعضی از گونه ها تنش آب باعث کاهش ودر برخی باعث افزایش محتوای کلروفیل می‌گردد. بررسی جدول مقایسه میانگین (جدول۲) نشان داد که رطوبت نسبی آب مرحله اول تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفته است البته تیمار $T_۱$ تخلیه رطوبتی حجمی۴۰٪دارای مقدار بیشتری نسبت به تیمار$T۲_۱$ (۷۰٪تخلیه رطوبت) بود ولی از نظر آماری معنی دار نمی‌باشند، از طرف دیگر رطوبت نسبی آب مرحله دوم تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته است، بطوری که تیمار (شاهد) تخلیه رطوبتی ۴۰٪ دارای مقدار بیشتری نسبت به تیمار$T۲_۱$ (۷۰٪تخلیه رطوبت) بود. محتوای آب نسبی در واقع ابزار بسیار مناسبی برای عملکرد برای یا اجزای عملکرد برای گزینش در تنش خشکی است (۲). بلام و همکاران (به نقل از۴) اعلام نمودند که ژنوتیپ هایی که بدون بستن روزنه های خود توانایی حفظ آب بیشتری دارد،برای مناطق خشک مناسب است. در کل تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ می‌شود (۳۹). نتایج آزمایشهای تحمل به خشکی در هند نشان داد که تنش باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ و سطح برگ می‌شود و ژنوتیپ های که در شرایط تنش محتوای آب نسبی بالا داشتند، از عملکرد بیشتری نیز برخوردار بودند (۵ و ۳۹). همچنین بررسی جدول مقایسه میانگین (جدول۲) نشان داد که میزان F۰ تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفته است ولی کمترین میزان F۰ مربوط به تیمار(۴۰٪ تخلیه رطوبتی)می باشد. روند تغییرات حاصله در این مرحله با نتایج اراس و همکاران (۹)، لیانگ و همکاران (۲۷) مطابقت دارد. در نتایج آنها مقدار F_o در شرایط افزایش سطوح تنش خشکی بیشترین مقدار را نسبت به شرایط بدون تنش دارا بود که نشان دهنده انهدام و تخریب مراکز واکنش PSII در شرایط تنش خشکی بوده است. هاواس و همکاران (۲۲) اظهار نمودند که تنش خشکی به تنهایی تغییرات معنی داری در F_o ایجاد نمی کند و معمولاً تنش گرمایی به تنهایی و یا در ترکیب با تنش خشکی می تواند موجب انهدام و یا تخریب مراکز واکنشی PSII شود، این نتایج توسط اراس (۹) و ویلسون (به نقل از۲) نیز اعلام شده است. مطالعه جدول مقایسه میانگین (جدول۲) نشان داد که میزان پاارامترهایF_m، F_v، F_v/F_m تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته است بطوری که بیشترین میزان پاارامترهایF_m ، F_v/F_m،F_v مربوط به تیمار $T_۱$ می باشد. مقدار FV در تیمار(۷۰٪تخلیه رطوبت) نسبت به تیمار (۴۰٪ تخلیه رطوبتی) ۱۳.۳ درصد کاهش نشان داد. اصولاً مقدار فلورسانس کلروفیل در زمانیکه پذیرنده الکترون Q در حالت احیاء باشد، زیاد است و به این دلیل مقدار FV نیز در این حالت زیاد می‌شود. اما زمانی که Q در حالت اکسیداسیون است مقدار فلورسانس کلروفیل a کم می‌باشد (۳۹). در این حالت میزان FV کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر در شرایط تنش Q در حالت اکسیداسیون شدن می‌باشد. بنابراین می‌توان استنباط

نمود که تنش خشکی احتمالاً در جریان انتقال الکترون در واکنش مربوط به تجزیه آب در فتوسیستم II اختلال ایجاد کرده و اثر تنش در جریان انتقال الکترون بعد از اولین پذیرنده الکترون (Q) ناچیز بوده است که از این طریق میزان کارایی کوانتومی‌فتوسنتز خالص کاهش یافته است (۳۹). تنش های محیطی مقدار FV را به علت ممانعت از فتواکسیداسیون PSII کاهش می‌دهند (۶، ۸، ۳۸ و ۳۹). از آنجایی که FV نشانگر احیاء کامل پذیرنده الکترون(Q) می‌باشد، بنابر این می‌توان استنباط نمود که تنش خشکی در انتقال الکترون به PSI اختلال ایجاد کرده است (۶، ۸ و ۳۹). مقدار F_v/F_m با افزایش سطوح تنش خشکی روند کاهشی نشان داد بطوریکه مقدار F_v/F_m در تیمار (۷۰٪ تخلیه رطوبت) کمترین مقدار خود را داشت و نسبت به شاهد به میزان ۱۳/۶٪ کاهش نشان داد. مقدار F_v/F_m نشان دهنده ظرفیت انتقال الکترون PSΠ است، بنابراین کاهش ۱۳.۶ درصدی نسبت F_v/F_m نشانه کاهش میزان حفاظت نوری بوده و همچنین دلیلی است بر اینکه تنش خشکی بر کارایی فتوسنتز اثر معنی داری گذاشته است.با توجه به این که مقدار F۰ در تمام رژیم های آبیاری تقریبا ثابت است، روند کاهشی FV/FM مربوط به کاهشFM می‌باشد. میت و همکاران (۳۸ و ۳۹) بیان داشت که به علت ایجاد اختلال در مسیر انتقال الکترون و تخریب بافتهای مرتبط با فتوسنتز تحت شرایط تنش، گیاه قادر به استفاده مطلوب از سوبسترا و انرژی نیست به همین دلیل کارایی مصرف سوبسترا و انرژی تحت چنین شرایطی به شدت کاهش می یابد که می تواند دلیل کاهش عملکرد دانه تحت شرایط تنش در آزمایش حاضر باشد در این آزمایش با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که کاهش F_V/F_M عمدتا به خاطر وقوع آشفتگی در کلروپلاست بوده و کاهش عدد کلروفیل متر نیز این موضوع را تایید میکند، زیرا فلورسانس کلروفیل به طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در مرکز واکنش فتوسیستم ها ارتباط داشته و می‌توان از ان به عنوان معیاری برای اندازگیری کارایی فتوسیستم نام برد.

تأثیر محلول پاشی متانول بر عملکرد، محتوای کلروفیل، رطوبت نسبی، نشت یونی و پارامترهای فلورسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) نشان داد که محلول پاشی متانول بر روی محتوای کلروفیل بعد از محلول پاشی و عملکرد دانه در سطح احتمال ۱٪ و بر پارامترهای ظرفیت فتوشیمیای فتوسیستم دو(FV/FM)، محتوای اب نسبی مرحله بعد از محلول پاشی (RWC)، فلورسانس متغیر (F_V)، حداکثر فلورسانس (F_M)در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شدند، درصورتی که برپایداری غشاء(EC)، کمبود آب اشباع(WSD)، فلورسانس اولیه F۰ ،محتوای اب نسبی قبل از محلول پاشی، عملکرد کوانتوم (YEILD)، کاهش فتوشیمیای(QP)، کاهش غیر فتوشیمیای(QN)،اثر معنی داری ندارد. نتایج بدست آمده نشان داد که عملکرد دانه تیمارهای ۱۴،۲۱درصد حجمی متانول به ترتیب با میانگین ۱۶۲۳/۹و ۱۸۱۱ کیلوگرم در هکتار دارای بیشترین مقدار بوده و اختلاف معنی داری با عملکرد تیمارشاهد و سایر تیمارها داشتند(جدول۲)و کاربرد متانول در تیمارهای ۲۱،۱۴ درصد حجمی به ترتیب موجب ۱۳، ۲۶/۱ درصدافزایش عملکرد نسبت به تیمار شاهد شده است. نکته قابل توجه این است که با افزایش مقدار متانول از ۲۸ تا ۳۵ درصد حجمی متانول عملکرد دانه کاهش پیدا کرد بطوری که عملکرد آنها حتی از شاهد هم کمتر بودند. این نتایج با نتایج صفرزاده ویشکاهی (۴۵) مطابقت دارد. لای و همکاران (۲۸) نیز اعلام کردند که عملکرد دانه، وزن دانه ها و تعداد غلاف در بوته هایی از سویا که با متانول تیمار شده بودند، بطور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بررسی جدول مقایسه میانگین(جدول۲) نشان داد که بیشترین میزان F۰ مربوط به تیمارهای ۱۴٪و ۳۵٪ حجمی متانول و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار ۷٪حجمی متانول بود. همچنین گروه بندی تیمارهای محلول پاشی متانول نشان داد که (جدول ۲) بیشترین میزان پارامترهای F_m ، F_v مربوط به تیمار M3به ترتیب با میانگین ۱۷۶۴،۹۳۲۱ بود، نکته قابل توجه این است که باافزایش سطوح محلول پاشی میزان پارامترهای F_m ، F_v افزایش یافت و این افزایش تا تیمار ۲۱٪حجمی ادامه داشته و پس از آن در تیمارهای ۲۸٪و ۳۵٪حجمی متانول کاهش پیدا کرد. که این مسئله بیان می کند که افزایش سطوح محلول پاشی بعد از تیمار ۲۱٪حجمی متانول باعث انهدام و تخریب بیشتر مراکز واکنش PSΠ گردیده است که این حالت معمولاً در شرایط تنش خشکی، گرمایی و یا نوری رخ می‌دهد.بنابراین می توان نتیجه گرفت که احتمالاً محلول پاشی در این سطح باعث ایجاد حالت تنش در گیاه گردیده است که در نهایت منجر به آسیب و تخریب مراکز واکنش در فتوسیستم Π می شود. از طرفی بررسی مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان پارامترهای F_v/F_m مربوط به تیمارهای ۷٪و ۱۴٪و۲۱٪حجمی متانول می باشد. که این مسئله بیان می کند که محلول پاشی متانول در این تیمارها باعث بهبود شرایط تنش و جلوگیری از انهدام و تخریب بیشتر مراکز واکنش PSΠگردیده است.همچنین کمترین میزانF_v/F_m مربوط به تیمار ۳۵٪متانول میباشد. در بین پارامترهای فلورسانس روند کاهشیFV/FM دراثر سطوح بالای محلول پاشی از بقیه پارامترهای فلورسانس کمتر بارز بود.

جدول ۱-تجزیه واریانس محتوی کلروفیل برگ(CHL_1)، محتوای آب نسبی (RWC_1)، عملکرد دانه(GY) نشت یونی و پارامترهای فلورسانس کلروفیل

منابع تغییرات	محتوای رطوبت نسبی۱	محتوای رطوبت نسبی۲	نشت یونی ۱	نشت یونی ۲	کمبود اب اشباع۱	کمبود اب اشباع۲	میانگین	مربعات	MS	حداکثر فلورسانس تاریکی	ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم Π	فلورسانس متغیر	عملکرد کوانتوم	کاهش فتوشیمیایی	کاهش غیر فتوشیمیایی
	RWC 1	RWC2	EC 1	EC 2	WSD 1	WSD 2	محتوای کلروفیل۱ $CHLa_{b1}$	محتوای کلروفیل۲ $CHLa_{b2}$	حداقل فلورسانس F O	FM	FV/FM	FV	YEILD	QP	QN
تکرار	ns۲۴,۶	ns۲۳,۲	ns۷۸۴۴	ns۵۰۶۱۱۹	ns۰,۴۳	ns۰,۲۵۲	ns۸۰	ns۴۲,۸	ns۱۰۴۱	ns۴۱۶۹۴	ns۰,۰۰۸	ns۴۳۵۱۸	ns۰,۰۰۱	ns۰,۰۰۲	ns۰,۰۰۷
تنش خشکی	ns۲۹,۹	*۱۱۶,۸	ns۱۳۲۲۵	۱۷۸۲۶ *	ns۰,۱۰۸	ns۰,۰۰۰۲	ns۲۴۰	*۱۵۹۵	۳۶ns	۵۴۹۰**	۰,۱۱*	**۵۵۸۰۰۹	ns۰,۰۰۲	ns۰,۰۰۱۱	ns۰,۰۷
متانول	ns۶۷,۶	*۱۰۵,۱	ns۱۱۲۹۸	۸۲۵۶۷ns	ns۰,۴۵	۰,۲۶*	ns۳۱۵	**۳۵۵۴	۴۹۲ns	*۱۱۳۹۰۳	۰,۰۳*	*۱۱۷۹۶۴	ns۰,۰۰۲۲	ns۰,۰۰۱۱	ns۰,۸
تنش خشکی * متانول	ns۵,۹	ns۹,۷	ns۱۱۵۷۴	ns۴۰۰۹۷	ns۰,۹۳۰	ns۰,۱۸۴	ns۱۶۴	ns۵۸۳,۲	ns۱۴۹۳	ns۱۹۳۳۹	ns۰,۰۰۹	ns۲۹۲۶۱	ns۰,۰۰۲	ns۰,۰۰۰۴	ns۰,۰۲
خطا	۳۵,۹۱	۳۸,۶۷	۸۸۰۷,۶	۴۰۶۲۳	۰,۴۷	۰,۵۵	۴۱۵	۳۹۲	۲۱۵۳,۲	۳۹۵۰۵	۰,۰۱۲	۴۱۳۲۲	۰,۰۰۲	۰,۰۰۱	۰,۰۴۴
ضریب تغییرات	۱۲,۱	۱۲,۰۷	۸,۷	۱۸,۰۶	۸۸,۴۱	۱۶,۳	۹,۶	۹,۵	۱۰,۸۳	۹,۹	۱۴,۸	۱۳,۰۲	۷,۶	۴,۳	۱۸,۷

ns ,*,** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح۵٪و۱٪

جدول۲- مقایسه میانگین وپارامترهای فلورسانس کلروفیل ومحتوی کلروفیل و نشت یونی و محتوای آب نسبی

تیمار	عملکرد دانه (kg/h)	محتوایرطوبت نسبی۱	محتوایرطوبت نسبی۲	نشت یونی ۱ (ds/m)	نشت یونی ۲ (ds/m))	کمبود اب اشباع۱	کمبود اب اشباع۲	محتوای کلروفیل۱	محتوای کلروفیل۲	حداقل فلورسانس	حداکثر فلورسانس تاریکی	ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم Π	فلورساس متغیر	عملکرد کوانتوم	کاهش فتوشیمیایی	کاهش غیر فتوشیمیایی
	GY	RWC 1	RWC2	EC 1	EC 2	WSD 1	WSD 2	$CHLa_{b1}$	$CHLa_{b2}$	F۰	FM	FV/FM	FV	YEILD	QP	QN
سطح نرمال	۱۶۷۵,۵۹a	۵۰,۳۹a	۵۳,۲۸a	۱۰۵۲,۶۱a	۱۰۴۵,۲۶a	۴,۵۵a	۴,۸۱a	۲۱۳,۹a	۲۱۵a	۴۲۷a	۲۱۱۲,۷۲A	۰,۸۰۵۸a	۱۶۵۸,۶a	۰,۶a	۰,۷۸۳۳a	۰,۲۳۸a
سطح تنش	۱۴۳۸,۹۸ b	۴۸,۵a	۴۹,۶۸b	۱۰۹۰,۹a	۱۱۸۵,۹۲b	۴,۵۴a	۴,۷a	۲۰۸,۷a	۲۰۱b	۴۲۹a	۱۸۶۵,۷B	۰,۶۹۵۲b	۱۴۳۶,۶b	۰,۶۰۵a	۰,۷۹۴۴a	۰,۲۳۸a
تیمار شاهد	۱۴۳۶ bc	۴۶,۱۷a	ab۴۸,۱	۱۰۴۲,۵ab	۱۱۹۴,۵b	۴,۸۸ab	۴,۹۹a	a۲۰۶	۱۹۷,۸۷b	۴۱۲AB	۱۸۶۶۶AB	۰,۷۴۸AB	۱۴۵۲BC	۰,۶A	۰,۸A	۰,۴A
۷٪حجمی متانول	۱۶۰۹ ab	۵۲,۵a	abc۵۴,۵	۱۱۴۲,۱a	۱۱۳۱b	۴,۶۵ab	۴,۰۶bc	a۲۱۴	۲۰۴,۹۲b	۳۸۳B	۲۰۰۹ABC	۰,۷۶۸A	۱۶۲۶AB	A۰,۶۰۳	۰,۷۶A	۰,۱۳A
۱۴٪حجمی متانول	۱۶۲۳,۹ ab	a۵۲,۵	ab۵۵,۲	۱۰۲۹,۱b	۱۱۳۹b	۴,۷۶ab	۳,۸۸c	a۲۱۷	۲۴۵,۹a	۴۵۸,۸A	۲۰۹۷AB	۰,۸۰۴۸A	۱۶۲۸AB	A۰,۶۱۶	۰,۸A	۰,۳۸A
۲۱٪حجمی متانول	۱۸۱۱ a	۵۲,۳a	a۵۵,۹	۱۰۳۸,۵ab	۸۸۱a	۴,۳۱b	۴,۰۴c	a۲۲۰	۲۲۹,۳۵a	۴۲۹,۸۳AB	۲۱۹۳A	۰,۸۲۰۶A	۱۷۶۴A	A۰,۶	۰,۷۸A	A۰,۲۵
۲۸٪حجمی متانول	۱۵۱۷,۱ bc	۴۷,۵a	c۴۷,۵	۱۰۳۸ab	۱۱۷۰,۵b	۵,۱۵a	۴,۹۹ab	a۲۰۱	۱۸۸,۹b	۴۲۶AB	۱۹۲۸BC	۰,۷۳۶AB	۱۵۰۲BC	A۰,۵۸۳	A۰,۷۸	۰,۲۶A
۳۵٪حجمی متانول	۱۳۵۲,۱ c	۴۵,۷a	c۴۷,۳	۱۰۹۵ab	۱۱۷۶,۷b	۴,۷۹ab	۵,۳۲a	a۲۰۷	۱۸۴,۲b	۴۵۸A	۱۸۴۰C	۰,۶۲۴B	۱۳۸۲C	A۰,۵۸	۰,۸A	۰,۱۳A
LSD	۲۳۱,۶	۷,۱۷	۷,۴	۱۱۲	۲۴۱	۰,۸۲	۰,۸۸	۲۴	۲۳,۷	۵۵	۲۳۷	۰,۳۷	۰,۱۳	۲۴۳	۰,۰۴۱	۰,۲۵

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD مربوطه در سطح احتمال ۰,۰۵اختلاف منی داری ندارند.

بررسی جداول تجزیه واریانس (جدول۱) و مقایسه میانگین (جدول۲) محتوای کلروفیل برگ سویا نشان داد که تفاوتهای آماری بین میزان محتوای کلروفیل قبل و بعد از محلول پاشی سوم وجود دارد بطوری که میزان محتوای کلروفیل قبل از محلول پاشی از نظر آماری معنی دار نشد از طرفی تیمار ۲۱٪ حجمی متانول دارای بیشترین میزان کلروفیل بود ولی شرایط بعد از انجام محلول پاشی سوم کاملا متفاوت شد، بطوری که کلیه تیمارها در گروهای آماری متفاوتی قرار گرفتند و تیمارهای M2و M۳ به ترتیب با داشتن میانگین های ۲۴۵.۹و۲۲۹.۳دارای بیشترین محتوای کلروفیل نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بودند. نکته قابل توجه این است که که باافزایش سطوح محلول پاشی میزان محتوای کلروفیل افزایش پیدا کرد و این افزایش تا تیمار ۲۱٪حجمی ادامه داشته و پس از آن در تیمارهای ۲۸٪و ۳۵٪ حجمی متانول کاهش پیدا کرد تا جای که حتی کمتر از تیمار شاهد بودند بودن این مسئله نشان دهنده این است که مقادیر بالای مصرف متانول باعث تخریب محتوای کلروفیل می‌شود. به هر حال استفاده از محلول پاشی متانول باعث افزایش میزان کلروفیل و افزایش ظرفیت فتوسنتزی در جهت افزایش ماده خشک میشود. صفرزاده ویشکاهی (۴۵) گزارش نمود که مقادیر بالای مصرف متانول اثر منفی بر مقدار عدد اسپاد دارد، در حالی که مقدار عدد اسپاد در تیمارهای ۱۰٪ تا ۳۰٪ درصد حجمی متانول به تدریج در طول فصل رشدافزایش پیدا کرد (۷،۲۵،۲۳،۳۳). تئودورید و همکاران ۲۰۰۲ اعلام کردند که پس از کاربرد متانول بر روی گیاهان محتویات درون سلولی و همچنین نسبت کلوفیل aبهb در سلول های گیاهان افزایش پیدا می‌کنند (۵۰). رامیرز و همکاران (۴۱) و رامبرگ و همکاران (۴۲) اعلام نمودند که محلول پاشی متانول باعث افزایش مقدار کلروفیل میشود. محلول پاشی متانول بر روی گیاهان دارای کمبود آب باعث افزایش غلظت کلروفیل در برگهای آنها می‌شود، در حالی که در گیاهان دارای آب کافی که با متانول تیمار شدند،مقدار کلروفیل کمی کاهش پیدا می‌کند (۱۰، ۳۶ و ۴۲). راجالا (۴۴) نیز افزایش مقدار کلروفیل را در بسیاری از گیاهان زراعی گزارش کرده اند. مقایسه میانگین (جدول۲) محتوای آب نسبی سلول نشان داد که تفاوت های آماری بین میزان محتوای آب نسبی سلول قبل و بعد از محلول پاشی سوم وجود دارد بطوری که محتوای آب نسبی سلول قبل از محلول پاشی از نظر آماری معنی دار نشد از طرفی تیمارهای۱۴٪و ۲۱٪ حجمی متانول دارای بیشترین میزان کمبود آب اشباع بود ولی شرایط بعد از انجام محلول پاشی سوم کاملا متفاوت بود بطوری که کلیه تیمارها در گروهای آماری متفاوتی قرار گرفتند و تیمارهای M2و M۳ به ترتیب با داشتن میانگین های ۵۵.۲و۵۵.۹دارای بیشترین محتوای آب نسبی سلول نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بودند. نکته قابل توجه این است که که باافزایش سطوح محلول پاشی میزان محتوای آب نسبی سلول افزایش پیدا کرد و این افزایش تا تیمار ۲۱٪حجمی ادامه داشته و پس از آن در تیمارهای ۲۸٪و ۳۵٪ حجمی متانول کاهش پیدا کرد تا جای که حتی کمتر از تیمار شاهد بودند. نتایج بدست آمده با نتایج صفرزاده ویشگاهی (۴۵) که در طی تحقیقات خود اظهار نمود که محلول پاشی باعث افزایش محتوای آب نسبی سلول در بادام زمینی شده است مطابقت دارد. مقایسه میانگین کمبود آب اشباع نشان داد که تفاوتهای آماری بین میزان کمبود آب اشباع قبل و بعد از محلول پاشی سوم وجود دارد بطوری که کمبود آب اشباع قبل از محلول پاشی از نظر آماری معنی دار نشد از طرفی تیمارهای۱۴٪و ۲۱٪ حجمی متانول دارای کمترین میزان کمبود آب اشباع بود ولی شرایط بعد از انجام محلول پاشی سوم کمی متفاوت شد، بطوری که کلیه تیمارها در گروهای آماری متفاوتی قرار گرفتند و تیمارهای M2 وM۳ به ترتیب با داشتن میانگین های ۳.۸۸و۴.۰۴ دارای کمترین کمبود آب اشباع نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بودند و تیمارهای M0 و M۵ دارای بیشترین مقدار کمبود اشباع آب می‌باشد.این پارامتر نشان دهنده نسبت آبی است که گیاه می‌تواند جذب کند تا به حالت آماس برسد، به عبارت دیگر هرچه مقدار عددی این پارامتر کمتر باشد به این معنی می‌باشد که گیاه زودتر به حالت آماس میرسد و می‌توان گفت که کمبود اشباع آب رابطه معکوس با محتوای آب نسبی سلول دارد ()). بنابراین می‌توان اظهار نمود که محلول پاشی متانول در تیمارهای M2وM۳ باعث کاهش کمبود آب اشباع شده و شرایط لازم را فراهم می‌کند تا گیاه در یک شرایط مطلوب آب درون سلولی برای رشد و توسعه بهتر سلول قرار گیرد. اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی متانول بر هیچکدام از پارامترهای مورد بررسی معنی دار نشد (۱۸ و ۲۱).

همبستگی بین عملکرد دانه،پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوای کلروفیل و محتوای آب نسبی

ارتباط بین عملکرد دانه (GY) و پارامترهای سریع فلورسانس کلروفیل برگ در سطوح مختلف تنش خشکی و محلول پاشی متانول مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول۳). عملکرد دانه همبستگی منفی با کمبود اب اشباع مرحله اول ($r = -0/56^{*}$) و نشت یونی مرحله اول ($r = -0/65^{*}$)نشان دادو همچنین پارامترهایFM ($r = 0/96^{**}$) و F_v/F_m نیز ($r = 0/81^{**}$) و محتوای آب نسبی مرحله اول ($r = 0/7^{*}$) و محتوای آب نسبی مرحله اول ($r = 0/77^{*}$) و کلروفیل مرحله اول ($r = 0/62^{*}$) کلروفیل مرحله دوم ($r = 0/67^{*}$)همبستگی مثبت و بالایی را با عملکرد دانه نشان دادند. اراس(۹) نیز همبستگی مثبت و بالایی بین عملکرد دانه و F_v بیان داشتند در حالیکه آنها بین پارامتر F_v/F_m کمترین همبستگی ($r = 0/34$) را با عملکرد دانه مشاهده

کردند. با توجه به اینکه مقدار F ۰ تحت سطوح مختلف تنش کاهش یافت و از طرفی هیچ گونه همبستگی بین F۰ و عملکرد دانه وسایر صفات وجود ندارد،این موضوع بیانگر آن است که احتمالاً بقیه فاکتورهای فلورسانس اثر بیشتری بر روی عملکرد دانه دارند لذا جهت ارزیابی تحمل به تنش خشکی صفاتی نظیر F_v و F_v/F_m که همبستگی بالایی با عملکرد دارند قابل اطمینان تر هستند. زلات(۴۷) نیز معتقدند که پارامتر F_v/F_m مشخصه خوبی برای تعیین تفاوت بین شرایط کنترل و شرایط تنش می باشد. همچنین اراس (۹) بیشترین همبستگی را برای F_o, F_v, F_m گزارش نمودند و بیان کردند که F_v/F_m کمترین همبستگی را با عملکرد دانه دارد.. پاکنزاد و همکاران (۳۹) بیان نمود که بیشترین همبستگی بین عملکرد دانه با پارامترهایی نظیر F_m، F_v وF_v/F_m می باشد. تحت شرایط آزمایش حاضر همبستگی زیادی بین FM و F_v/F_m با عملکرد دانه وجود داشت که مطابق با نتایج پاک نزاد و همکاران (۳۹)، زلات (۴۷) اراس (۹) می باشد. F_v/F_m همبستگی مثبت و بالایی با عملکرد دانه ($r=۰/۸۱^{**}$) و F_m ($r=۰/۸^{**}$) و همبستگی منفی با محتوای اب نسبی۲ ($r=۰/۷^{**}$)، کمبود اب اشباع۱ ($r=۰/۶۲^{*}$) و نشت یونی ($r=۰/۵^{**}$) داشت. از آنجائیکه نسبت F_v/F_m نشان دهنده ظرفیت انتقال الکترون PSΠ می باشد (۸،۲۷،) که با عملکرد کوانتوم فتوسنتز خالص همبستگی بالایی دارد می توان نتیجه گرفت که هرچه میزان محتوای اب نسبی برگ بالاتر و نشت یونی کمتر باشد شرایط لازم برای انتقال الکترون از فتوسیستم Π بهتر خواهد بود و در نتیجه موجب بالا رفتن عملکرد کوانتوم فتوسنتز خالص خواهد شد (۶ و ۳۹).

نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش نشان داد که پارامتر های اندازه گیری شده تحت شرایط تنش خشکی می توانند به عنوان معیاری در جهت تعیین شدت تنش باشند. از طرفی وجود همبستگی بالا بین عملکرد دانه با پارامتر هایی نظیر محتوی کلروفیل و نشت یونی، می توان نتیجه گرفت که این پارامترها نیز معیار خوبی برای تعیین عملکرد بالاتر تحت شرایط تنش هستند. پارامتر های عملکرد دانه، محتوای کلروفیل، محتوای اب نسبی پارامتر های فلورسانس کلروفیل تحت تیمارهای متانول قرار رفتند. محلول پاشی گیاه سویا با غلظت های۱۴٪ و ۲۱٪ حجمی متانول باعث افزایش چشمگیری در میزان عملکرد دانه تولید شده در هکتار و محتوای کلروفیل، محتوای اب نسبی پارامتر های فلورسانس کلروفیل آن گردید. غلظت ۲۸٪ حجمی و بالاتر در این آزمایش موجب گیاه سوزی و کاهش عملکرد دانه و محتوای کلروفیل،محتوای اب نسبی و در پی آن کاهش میزان این پارامترها را گردید لذا مصرف این ماده در این غلظت ها برای گیاه سویا توصیه نمی شود.

تشکر و قدر دانی

این پژوهش با همکاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و بخش فیزیولوژی موسسه بیوتکنولوژی کرج انجام شد. بدین وسیله از زحمات آقایان دکتر فرزاد پاک نژاد،دکتر تاج دینی، دکتر محمد رضا اردکانی،دکتر فواد مرادی، دکتر محمد نصری، مهندس یاسر ریحانی و همچنین از زحمات خا نم مهندس پریسا ناظری تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

جدول۳- ضرایب همبستگی ساده بین پارامترهای مورد بررسی

	۲CHL	۱CHL	۲WSD	۱WSD	۲EC	۱EC	RWC_2	۱RWC	FV	FV/FM	FM	F0
GY	۰.۶۷ **	۰.۶۲ *	-۰.۱۸ ns	-۰.۵٦ *	-۰.۳ ns	-۰.٦ *	۰.۷**	۰.۷ *	۰.۰٦ ns	۰.۸ **	۰.۹ **	-۰.۲ ns
F0	-۰.٦٥ ns	۰.۱۹ ns	-۰.۱٦ ns	۰.۰۸ ns	-۰.۳ ns	-۰.۱ ns	-۰.۰٦ ns	-۰.۱ ns	۰.۳ ns	-۰.۱ ns	-۰.۱ ns	
FM	۰.٦۹ **	۰.۷ **	-۰.۱۷ ns	-۰.۵۸ *	-۰.۳ ns	-۰.٦ *	۰.۱۸ ns	۰.۷ **	۰.۱ ns	۰.۸ **		
FV/FM	۰.۳۸ ns	۰.۵ ns	-۰.۲٦ ns	-۰.٦۲ *	-۰.۰۲ ns	-۰.۰۵ *	۰.۷۷ **	۰.۱۷ ns	-۰.۱ ns			
FV	۰.٤۱ ns	۰.۲۸ ns	-۰.۳۸ ns	-۰.۱۹ ns	-۰.۲ ns	-۰.۵ ns	۰.۳ ns	۰.۲ ns				
۱RWC	۰.٦ *	۰.٦ *	-۰.٤ ns	-۰.۹۲ **	-۰.۰۳ ns	-۰.۵ ns	۰.۹ **					
۲RWC	۰.٦۸ *	۰.٦۹ *	-۰.٤٤ ns	-۰.۸ **	-۰.۱٦ ns	-۰.٦۲ *						
۱EC	-۰.٤۸ ns	-۰.٤٦ ns	۰.۳٥ ns	۰.۳ ns	۰.۵ ns							
۲EC	-۰.۳۹ ns	-۰.۵۱ ns	-۰.۱۹ ns	-۰.۰۲ ns								
۱WSD	-۰.۵ ns	-۰.٦۹**	۰.۳ ns									
۲WSD	۰.۰۸ ns	-۰.۱٦ ns										
۱CHL	۰.۷**											

منابع

۱- زارع م.، دانشیان ج، زینالی خانقاه ح. ۱۳۸۳ تنوع برای مقاومت به خشکی در سویا. علمی کشاورزی شهریور; ۲۷(۱):۳۳-۵۰ .

۲- جباری ف، احمدی ع، پوستینی ک ۱۳۸۵. بررسی ارتباط فعالیت آنزیمهای انتی اکسیدانت با کلروفیل در ارقام گندم نان. مجله علوم کشاورزی جلد ۲۰۱

۳- صمیمی ن، صبا ج شکاری ف. ۱۳۸۶.قابلیت استفاده از صفات فیزیولوژیکی به عنوان شاخص مقاومت به خشکی در گندم.مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۴:۵

۴- پورموسوی، م. گلوی،م. دانشیان،.ج. ۱۳۸۶بررسی تأثیر تنش خشکی و کود دامی بر محتوای رطوبت و پایداری غشاء و کلروفیل برگ سویا. علوم کشاورزی و منابع طبیعی جلد ۴: ۴.

۵- مدرس ع، سروش ع، جلالی، م. سال ۱۳۸۳.تغییرات میزا پرولین کلروفیل و فلورسانس در گلرنگ تحت تنش و محلو پاشی روی و منگنز. بیابان (جلد ۹ ;ه ۱)

6- Ali Dib, T., P.H. Monneveux, J. Acevedo and M.M. Nachil. 1994. Evaluation of praline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drough tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var. durum). Euphytica, 79 (1-2): 65-73.

7- Andres, R., Lazaro, Chueca, A., Hermoso, R., Gorge, L. 1990. Effect of alcohols on the association of photosynthetic FBPase to thylakoid membranes. Physiol. Plant. 78: 409-413.

8- Anonymous. 1993. An introduction to fluorescence measurements with the plant efficiency analyzer (PEA) Hansatech Instruments Ltd. England.

9- Araus, J.L., T. Amaro, . Voltas., H. Nakkoul and M.M. Nachit. 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. Field Crops Research, 55: 209-223.

10- Bernal F. 2005. Foliar and root cu supply affect defected in soybean. Field Crops Research,47: 227-234

11- Bilger, W., U. Schreiber and M. Bock. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystemII and of non-photochemical quenching of chlorophyll fiuorescence in the field. Oecologia,102 (4): 425-432.

12- Behra, R.K., Mishra, P.C., and Choudhury, N.K. 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. J. Plant Physiol. 159: 967-973.

13- Boyer, J. S., P.A. Armand and R.E. Sharp. 1987. Light stress and leaf water relations. In: Kyle, D.J., C.B. Osmoud and C.J. Arntzen (eds), Photoinbibition. EIsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 111-122.

14- Castrillo, M. and I. Trujillo. 1994. Ribulose-1-5, biphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein content in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. Photosynthetic , 30:175-181.

15- Chen. Jun. Dai, Junying. Chen. J. Dai, J.Y. 1996. Effect of drought on photosynthesis and grain yield of corn hybrids with different drought tolerance. Acta, Agronomica, Sinica, 22:6, 257-762

16- Cornuc , G. 1994. Drough stress and high light effect on leaf photosynthesis. In:Baker N.B., & J.R.Bower (eds), Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field. Oxford , UK:Bios Scientific Publishers , 297-313.

17- Daneshian J.. D. Zare.2005. Diversity for resistance drought on soybean. Journal of Agricultural Sciences, 50(1): 27-33.

18- Downie, A., S. Myazaki, H. Bohnert. 2004. Expression profiling of the response of methanol. 65: 2305-2316.

19- Flageaa, Z., B.Pastore,R.G. Campanile and N.D. Fonzo. 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drough tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars. J. Agric.Sci., (Camb), 122(2):183-192.

20- Graan,T. and J.S., Boyer. 1990.Very high CO_2 partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials. Planta, 181,378-384.

21- Gout, E., S. Aubert, R. Bligny, F. Rebeille and A.R. Nonomura. 2000. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. Plant Physiol. 123: 287– 296.

22- Havaux, M., M. Emez and R. Lannoye. 1998. Selection de varietes de ble dur (*Triticum durum* Desf.) et de ble tender (*Triticum aestivum* L.) adapted a la secberesse par I mesure de I extinction de la et de ble tender (Triticum aestivum L.) adapted a la secberesse par I mesure de I extinction de la fluorescence de la chlorophylle in viva. Agronomie, 8(3):193-199.

23- Hemming, D. and R. Criddle. 1995. Effects of methanol on plant respiration. J. Plant Physiol. 146: 193-198.

24- Hanson, A.D. and S. Roje. 2001. On carbon metabolism in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52: 119-137.

25- Kishitani, S; Takanami, T; Suzuki, M; Oikawa, M; yokoi, S; Ishitani, M; Nakase, A.M.A and Takabe, T. 2000. Compatibility of glycinbetaine in rice plants: evaluation using transgenic rice plants with a gene for peroxisomal betaine aldehyde dehydrogenase from barley. Plant Cell Environ. 23: 107-114.

26- Lauer, M.J. and J.S. Boyer. 1992. Internal CO_2 measures directly in leaves: abssic acid and low leaf water potential cause opposing effects. Plant Physiology 98:1010-1016.

27- Liang, J., J. Zhang and M. Woog. 1997. Can stomatal closure caused by xylem ABA explain the inhibition of leaf photosynthesis under soil drying ? Photosynthesis Research, 51: 149-159.
28- Li, Y., J. Gupta and A.K. Siyumbano. 1995. Effect of methanol on soybean photosynthesis and chlorophyll. J. Plant Nutr. 18: 1875-1880.
29- Larsson, E.H., Bornman, J.F., and Asp., H. 1998. Influence of UV-B radiation and CO_2 on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. Journal of Experimental Botany. 149(323): 1031-1039.
30- Majidi Heravan, E. 1994. Resistant physiological mechanism to envairomental limited. Proceedings of the 3th Crop Production Science
31- Masojidek, J., S. Trivedi, L. Halsbaw, A. Alexiou and D.O. Hall. 1991. The synergistic effect of drought and light stresses in sorghum and pearl millet. Plant Physiology, 96:198-207.
32- Moffatt, J. M., R.G. Sears and G.M. Paujsen. 1990. Wheat high temperature tolerance during reproductivegrowth: I. Evaluation by chlorophyll fluorescence. Crop Sci., 30(4): 881-885.
33- Makhdum, M.I., M.N.A Malik, S.U. Din, F. Ahmad and F.I. Chaudhry. 2002. Physiological response. of cotton to methanol foliar application. J. Res. Sci. 13: 37–43.
34- McGiffen, M. and J.A. Manthey. 1996. The role of methanol in promoting plant growth: a current. evaluation. Hort Sci. 31: 1092- 1096.
35- Nonami, H., Wu, Y., and Matthewse, M.A. 1997. Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhibition at low water potentials. Plant Physiology, 114: 501-509.
36- Nonomura, A.M. and A.A. Benson. 1992. The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89: 9794–9798.
37- Nemecek-Marshall, M., R.C. MacDonald, J.J. Franzen, C.L. Wojciechowski and R. Fall. 1995. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol. fluxes to stomatal conductance and leaf development. Plant Physiol. 108: 1359–1368.
38- Ommen, O.E., and Donnelly, A. 1999. Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO2 concentrations and other environmental stresses within the 'ESPACE-wheat' project. European Journal of Agronomy. 10: 197-203.
39- Paknejad, F.M, Nasri., H.R, Tohidi Moghadam., H, Zahedi and M, Jami Alahmad. 2007. Effects of Drought Stress on chlorophyll fluoresence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. Journal of Biological Sciences7(6): 841-847.
40- Pessarkli, M.1999.Handbook of Plant and Crop Stress. Mlicea.Dekker.
41- Ramberg, H.A., J.S.C., Bradley, J.S.C., Olson, J.N. Nishio, J. Markwell and J.C. Osterman. 2002. The Role of Methanol in Promoting Plant Growth: An Update. Rev. Plant Biochem. Biotechnol. 1:113-126.
42- Ramirez, I., F. Dorta, V. Espinoza, E. Jimenez, A. Mercado and H. Pen a-Cortes. 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco and tomato plants. J Plant Growth Regul. 25: 30-44.
43- Robinson, s. p. and Jones, G. P. 1986. Acclimation of glycinbetaine in choloroplasts provides osmotic. adjustment during salt stress, Aust, J. Plant Physiol. 13: 659-668.
44- Rajala,A.,J. Karkkainen, J.Peltonen and P. Peltonen-Sainio, 1998. Foliar application of alcohols failed to enhance growth and yield of C3 crops. Ind. Crop. Prod. 7: 129-137.
45- Safar zade vishgahi M.N.,nor mohamadi, magidi haravan,.2005.*Effect of methanol on peanut function and yield components*. Journal Olom zeraei:103_88.
46- Taiz J. and E. Zeiger .2001. Plant Physiology.Vol. 2 379pp
47- Zelate,.Z.S.,YordanovI.T.,2005.Effects of soil drought onphotosynthesis and chlorophyll fluorescence inBean plants.department of physiology biochemistry,agriculctural,university-plovdiv4000 plovdiv,Bulgari.
48- Vazan. S. 2002. Effects of chlorophyll parameters and photosynthesis efficiency in difference beet. Assay PhD thesis, Islamic Azad University, Science and Research Tehran-Branch. 285pp.
49- . Zbiec, I., S. Karczmarczyk and C. Podsiado. 2003. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. Elec. J. Polish Agri. Univer., Agronomy. 6 (1): 1-7.
50- Theodoridou, A., D. Dornemann and K. Kotzabasis. 2002. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. Biochim. Biophys. Acta. 1573: 189–198.