بررسی اثر تنش خشکی و محلول پاشی سلنیوم بر عملکرد و فعالیت برخی از بیومارکرهای بیوشیمیایی در ارقام مختلف آفتابگردان روغنی

Antioxidative response of Sunflower (Helianthus annus)varieties under water deficit and selenium foliar application

محمدرضا دادنیا[۱]– داوود حبیبی[۲]، محمد رضا اردکانی[۲]، قربان نور محمدی[۳] دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات کمی و کیفی ارقام مختلف آفتابگردان روغنی طرحی به صورت کرت های دوبار خرد شده در قالب بلوک های کامل تصادفی با ۴ تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به مورد اجرا در آمد.در این آزمایش تیمارهای آبیاری شامل قطع آبیاری در مرحله گلدهی کامل و آبیاری تا اواخر دوره رشددر کرت های اصلی، ارقام مورد نظر به نام های رکورد، آرماویرسکی، چرنیانکا، زاریا و پروگرس در کرت های فرعی و تیمار سلنیوم از منبع سلنیت سدیم توسط محلول پاشی در مرحله گلدهی در کرت فرعی فرعی قرار گرفت. در طول دوره رشد صفاتی از قبیل عملکرد دانه، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و شاخص های بیوشیمیایی اندازه گیری شدند. بررسی نتایج نشان داد اختلاف معنی داری در تیمارهای آبیاری و ارقام و همچنین مصرف سلنیوم در سطح ۹۹درصد وجود داشت بطوری که مقایسه میانگین تیمارها بیانگر کاهش ۴۷ درصدی عملکرد دانه در تنش قطع آبیاری بود. سلنیوم تاثیر معنی داری در سطح ۹۹ درصد در شرایط آبیاری و تنش آب داشت بطوریکه تحت شرایط تنش آب میزان عملکرد تحت تاثیر سلنیوم افزایش یافت. نتایج حاصله نشان داد که سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و بیومارکرهای بیوشیمیایی به شدت تحت تاثیر سلنیوم و تیمار آبیاری قرار گرفت و اختلاف معنی داری در سطح ۹۹ درصد مشاهده شد بطوریکه تحت تاثیر تنش آب و محلول پاشی سلنیوم میزان فعالیت این آنزیم ها افزایش یافت. بطورکلی در این آزمایش رقم پروگرس مقاوم ترین و رقم زاریا حساس ترین رقم به خشکی شناخته شد. همچنین از میزان فعالیت شاخص های مالون دی آلدئید (MDA)، دی تیروزین (TY_Di)، دی هیدروکسی گوآنوزین (DG-oH-8) می توان بعنوان معیاری مناسب جهت گزینش ارقام در مقاومت به خشکی استفاده کرد.

واژه های کلیدی: آفتابگردان روغنی، سلنیوم، کمبود آب، شاخص های بیوشیمیایی

۱– دانشگاه آزاد اسلامی– واحد علوم و تحقیقات اهواز
۲– دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۳– دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

مقدمه

انباشت پر اکسید هیدروژن در سطح سلولی زیان آور است زیرا منجر به صدمات اکسیداتیوونابودی کارساخت و ساز در گیاهان می شود بطوریکه افزایش میزان پراکسید هیدروژن به واسطه بروز تنش خشکی و تداوم آن می باشد (کری،۱۹۹۰). در موجودات زنده پراکسید هیدروژن بوسیله کاتالاز وگلوتاتیون پراکسیداز سم زدایی می شود. کاتالاز از سلول ها در برابر پراکسید هیدروژن تولید شده توسط خود آنها محافظت می کند. یافته های بیوشیمیایی نشان می دهند که کاتالاز در دو اندامک پراکسی زوم و گلی اکسی زوم مستقر می باشد. کاتالاز نقش مهمی در نابودی عوامل بیماری زا ونیز همزیستی با انگل میزبان دارد. ویلکنز (۱۹۹۷) و کورپاس (۲۰۰۱) نشان دادند که در گیاهان روغنی خصوصا آفتابگردان تحت تنش های مختلف سطح رادیکال های آزاد پر اکسید در بافتها افزایش می یابد.این رادیکال ها سبب اکسیداسیون لیپیدهای گیاه شده و ضمن تخریب آنها عملکرد را تحت تاثیر قرار می دهند (ویلکیتمزیا۱۹۹۷). پس می توان گفت که تنش های محیطی موجب افزایش میزان پراکسید هیدروژن،دی اکسیدکربن و یون هیدرواکسید در بافت‌ها می شوند (دات۲۰۰۰ و رائو۱۹۹۶).واکنش های انواع فعال و نیمه فعال رادیکالهای آزاد اکسیژن در فرآیندهای تخریبی با آسیب دیدگی مانند پیری (هارمن ۱۹۹۵)، سرطان (دات۲۰۰۰)، بیماری انسداد شرایین قلب و آلزایمر (کری۱۹۹۰، اسمیت۱۹۹۶) نقش دارند. گلوتاتیون پراکسیداز حاوی سلنیوم دارای پس ماند سلنوسیستئین در هر چهار واحد فرعی می باشد که برای فعالیت آنزیم ضروری است.گلوتاتیون پراکسیدازکاهش پر اکسید هیدروژن را با استفاده از گلوتاتیون احیا شده کاتالیز می کند و از سلول ها در برابر آسیب های ناشی از اکسایش محافظت می‌کند (دیکسون، ۱۹۹۸). افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در پنبه و گندم که در معرض تنش خشکی قرار گرفته اند نشان می دهد که همزمان با تولید پر اکسید هیدروژن این افزایش می تواند منجر به جذب الکترون های فردوکسین توسط NADP گردد که در نتیجه میزان تولید سوپر اکسید کاهش می یابد. سیرانف (۱۹۹۸) و پراساد و کوکسی (۲۰۰۰) گزارش کردند یک رابطه قوی بین گلوتاتیون و تغییرات مقاومت به سرما در ذرت وجود دارد (دیکسون ۱۹۹۸ و سیرانو ۱۹۹۸). افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پر اکسیداز در اثر خشکی و با درجه حرارت توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (آسارا، ۱۹۸۷). بطورکلی تنش های محیطی تولید سوپر اکسید را افزایش می دهند.این تولید می تواند برای انسجام و عملکرد غشاء زیان آور باشد زیرا عکس العمل های متفاوت بین پروتئین‌ها و لیپیدها ممکن است جایگاه گونه های مولکولی متنوع را در لیپید دو لایه ای به طوری تغییر دهد که بیشتر در معرض اکسیژن قرار گیرند (آسارا،۱۹۸۷). بنابراین تحت این شرایط تولید رادیکال پر اکسید افزایش می یابد.توزیع فضایی آنزیم هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و بیومارکر مالون دی آلدئید غشاها می تواند تا حدودی در برقراری مقاومت نسبت به خشکی مهم باشد (بولور،۱۹۹۲). در گیاهان روغنی بخصوص آفتابگردان نسبت مالون دی آلدئید به سوپر اکسید دیسموتاز یک معیار مناسب برای خنثی کردن تاثیرات زیان آور یک تنش اکسایشی به شمار می رود (اکوآرتاکی،۲۰۰۰). بطوریکه به نظر می رسد مالون دی آلدئید نقش مهمتری نسبت به سوپر اکسید دیسموتاز در فعال سازی گونه های روغنی در سطح تیلاکوئید دارا می باشد چون علاوه بر واکنش با پر اکسید هیدروژن ممکن است با سوپر اکسید هم واکنش دهد. پس می توان گفت که در ارقام مقاوم به خشکی نسبت مالون دی آلدئید به سوپر اکسید دیسموتاز افزایش می یابد و این یک معیار مهم در ارزیابی گونه‌های مقاوم به خشکی نیز تلقی می گردد (نواری،۱۹۹۹). آنا نیوا و پوپاوا (۲۰۰۲) گزارش کردند که عوامل مهم در افزایش سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهان عبارتند از استفاده از علف کش هایی مانند پاراکوآت، افزایش غلظت دی اکسید گوگرد در اتمسفر، ایجاد تنش خشکی و غلظت بالای روی و منیزیوم (آنانیوا،۲۰۰۲). آنزیم‌های شبیه سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پر اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتازتحت تاثیر تنشهای محیطی باعث برقرای تعادل بین تولید AOS[1]ها و فعالیت آنتی اکسیدانت ها می شوند (دهیلون،۲۰۰۲). به نظر می رسد افزایش AOSها در نتیجه پاسخ به همه تنش های غیر زنده شامل خشکی، نمک، دمای زیاد، کمبود مواد غذایی و آلودگی هوا رخ دهد (آسالاتا، ۱۹۹۸). هیدروژن پر اکسیداز تولید شده هم توسط کاتالاز و هم توسط اشکال مختلف پر اکسیدازها مثل گلوتاتیون پر اکسیداز دگرگون می شوند (هی،۲۰۰۳). مالون دی آلدئید یکی از مهمترین آنزیم هایی است که در تجزیه پر اکسیدهای سلولی در شرایط تنش نقش دارد. آنزیم کاتالاز در اندامک های سلولی چون میتوکندری، پراکسی زوم و گلی اکسی زوم وجود دارد (سگری،۲۰۰۰). طبق گزارش برخی ازپژوهشگران آنتی اکسیدانت افزایش یافته در تنش سرمایی بر گندم مانع افزایش میزان پراکسید هیدروژن گردیده و

1– Active oxygen species

از خطر تخریب سلولی جلوگیری کرده است (سگری،۲۰۰۰). کاتالاز، دی هیدروکسی گوآنورین و دی تیروزین نقش کلیدی در تولید پر اکسید هیدروژن دارند بطوری که تیمار مس بر روی برگ میزان فعالیت کاتالاز، گلوتاتیون پر اکسیدازوتیروزین را در ریشه آفتابگردان را افزایش داد (دیکسون، ۱۹۹۸). محلول پاشی سلنیوم بر روی برگ گیاهان زراعی میزان آنزیم های آنتی اکسیدانت را افزایش داده و مقاومت به خشکی را بالا می برد (دهیلول،۲۰۰۲). افزایش میزان سلنیوم در خاک از طریق دفع آن توسط ریشه گیاه در اثر آب آبیاری باعث تغییرات فزاینده در سیستم دفاعی برنج و آفتابگردان در برابر تنش خشکی شد (دیلون،۲۰۰۲ و تیموتی۲۰۰۱). به واسطه بروز تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت افزایش می یابد. نتایج آزمایشات نشان می دهد که در طول زمان تنش سطح لیپید پراکسیداز و سطح فعالیت دو شاخص مالون دی آلدئید و دی تیروزین در اثر محلول پاشی سلنیوم افزایش می یابد (رحمانی،۲۰۰۴). جوز و همکاران (۱۹۹۹) دریافتند که در گیاهان روغنی بخصوص آفتابگردان محلول پاشی سلنیوم تاثیر معنی دار در افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی ایفا می کند بطوریکه تحت این شرایط میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و شاخص های مالون دی آلدئید،تیروزین و دی هیدروکسی گوآنوزین افزایش می یابد (جوز، ۱۹۹۹). نتایج برخی پژوهش های دیگر توسط تیموتی (۲۰۰۱) نشان می دهد که تیمار گیاه با سلنیوم می تواند مقاومت گیاه به خشکی را افزایش دهد بطوری که این افزایش مقاومت می تواند بدلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت باشد (تیمونی،۲۰۰۱).

مواد و روش ها

طرح آماری بکار رفته در آزمایش کرتهای دو بار خرد شده در قالب بلوک های کامل تصادفی در چهار تکرار بود. در این آزمایش تیمارهای آبیاری (فاکتور A) در کرت اصلی (متر۵×۶۰متر) دردو سطح (آبیاری و عدم آبیاری)، ارقام مورد نظر (فاکتور B) به نام‌های رکورد، آرماویرسکی، چرنیانکا، زاریا و پروگرس در ۵ سطح در کرت فرعی و تیمار سلنیوم از منبع سلنیت سدیم (فاکتور C) در دو سطح (بدون سلنیوم و اعمال سلنیوم) به میزان ۱۸ گرم در هکتار در کرت فرعی فرعی قرار گرفت. زمان اعمال تنش در مرحله گلدهی کامل در حدود ۷۵ روز پس از کاشت بود. معیار تنش با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی خاک ارزیابی شد. بدین ترتیب که قبل از شروع آزمایش اصلی در کنار مزرعه کرتی به ابعاد ۳× ۲ متر تهیه گردیده و بلوک گچی در آن به عمق ۴۰ سانتیمتر قرار داده شد. سپس با اندازه گیری روزانه هدایت الکتریکی خاک و اندازه گیری در صد رطوبت خاک منحنی کالیبراسیون آن تهیه گردید. بر اساس این منحنی هنگامی که هدایت الکتریکی به صفر می رسید میزان رطوبت خاک حدود ۸ درصد می شد که از این میزان بعنوان معیار تنش استفاده شد. در آزمایش اصلی نیز درکرت تنش خشکی بلوک گچی کار گذاشته شد و با رسیدن هدایت الکتریکی خاک مزرعه به ۶۰ میلی موهس بر سانتیمتر مربع وضع ظاهری بوته ها از لحاظ شادابی به گونه ای بود که پژمردگی برگ ها آشکار شده و میزان رطوبت خاک در این حالت حدودا ۱۴ درصد بود.

جهت محاسبه میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت تعداد ۲ عدد برگ از هر کرت در زمان ۳۰ روز پس از گلدهی کامل (اعمال تنش) برداشت شد (۸). سپس برگها در داخل محفظه ای که کف آن بطور کامل از یخ پوشیده شده بود به آزمایشگاه انتقال داده شد.در این آزمایش میزان فعالیت شاخص های بیو شیمیایی شامل دی هیدروکسی گوآنوزین (18-OH-Dg[1])، مالون دی آلدئید (2MDA[2]) و دی تیروزین (3Di-TY[3]) مورد اندازه گیری قرار گرفت. بمنظور ارزیابی عملکرد دانه (با رطوبت ۱۳ درصد) پس از رسیدن کامل گیاه برداشت و سپس دانه ها از طبق جدا شده و توزین شدند.

۱- دی هیدروکسی گوآنوزین

به نمونه های برگی مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش بوگدانو[4] (۱۹۹۹) اضافه شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. پس از آن در باقیمانده محلول استخراجی مقدار دی هیدروکسی گوآنوزین مورد اندازه گیری قرار گرفت. در این روش میزان فعالیت بیومارکر از طریق ستون کربن بر پایه LCEC ارزیابی شد.

۲- مالون دی آلدئید و دی تیروزین

به نمونه های برگی ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش استیون[5] (۱۹۸۷) اضافه شد. در این روش

1- Di hydroxy goanozine
2- Malon di aldehyde
3- Di Tirosine
4- Bogdanov
5- Steven

میزان فعالیت براساس واکنش به مایع کروماتوگرافی بود.بافر زمینه برای کار حاوی تریس اسیدکلریدریک با pH =2/7 و ۰/۲ میلی مول بر لیتر سدیم دی سدیک و ۰/۲ میلی مول بر لیتر آسکوربات بود. یک واحد فعالیت مالون دی آلدئید و دی تیروزین معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوبسترا را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شده است.

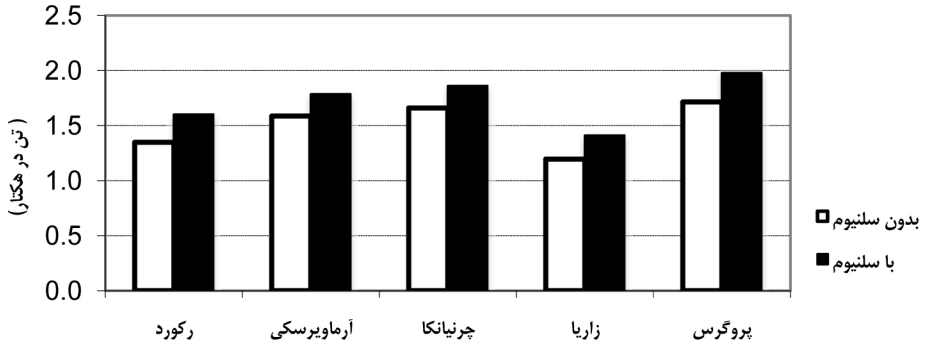
۳- محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم

محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در مرحله اواسط گلدهی و به میزان ۱۸ گرم در هکتار بر اساس منابع مورد مطالعه از منبع سلنیت سدیم بوسیله سمپاش انجام شد. برای این منظور پس از محاسبه جرم مولکولی سلنیت سدیم و محاسبه مساحت هر کرت مشخص شد هرکرت ۷۳/۵ میلیگرم سلنیوم نیاز دارد پس با توجه به تعداد کرت ها (۴۰ عدد) و مساحت زمین میزان سلنیوم مصرفی در حدود ۴گرم در نظر گرفته شد و با توجه به تعدادبوته در هرخط(۱۶بوته) مشخص شد که هر کرت به ۴/۵ لیتر آب برای محلول پاشی نیاز دارد بنابراین میزان سلنیوم مورد نظر با توجه به تعداد کرتها در ۱۸۰ لیتر آب حل و برای چهار تکرار مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

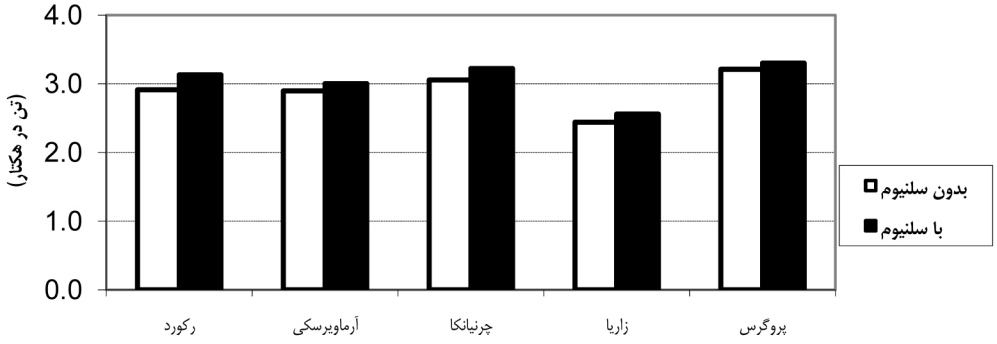
عملکرد دانه

کلیه تیمارهای تنش خشکی نسبت به تیمار آبیاری معمول کاهش عملکرد دانه نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده عملکرد دانه در شرایط تنش در حدود ۳۶ درصد نسبت به شرایط آبیاری کاهش یافت.وجود اختلاف معنی دار در سطح ۹۹ درصد از نظر میزان عملکرد دانه بین تیمار های آبیاری و واریته ها مشاهده شد (جدول ۱). معنی دار شدن اثر متقابل چهار گانه سال، تنش، سلنیوم و ارقام (در سطح ۹۹٪) نیز ناشی از هم روند نبودن تغییرات حاصله درعملکرد دانه درسطوح مختلف از فاکتورهای مزبور است ضمن اینکه بخشی از آن بدلایل معنی‌دار شدن اثر متقابل سلنیوم و ارقام است (اسمیت،۱۹۹۶). محلول پاشی گیاه توسط عنصر سلنیوم باعث افزایش۲۰ درصدی عملکرد تحت شرایط تنش و در شرایط نرمال باعث افزایش ۵ درصدی عملکرد دانه شد (اشکال ۱ و ۲).



شکل ۱. میزان عملکرد تحت تاثیر سلنیوم در شرایط تنش درواریته های آفتابگردان روغنی.

Fig.1 Yield affected with selenium at water deficit condition in oil sunflower varieties.



شکل ۲ . میزان عملکرد تحت تاثیر سلنیوم در شرایط معمولی در واریته های آفتابگردان روغنی.
Fig2.Yield affected with selenium at normal condition in oil sun flower varieties.

تیموتی (۲۰۰۱) متوسط عملکرد دانه ارقام مورد بررسی را معادل ۲۸۳۴/۸ کیلوگرم در هکتار اعلام کرده است. وی همچنین عملکرد رقم پروگرس را ۳۲۳۲ کیلوگرم در هکتار گزارش کرده است (تیموتی، ۲۰۰۱) ولی زویر (۲۰۰۵)، عملکرد دانه این رقم را معادل ۱۱۴۰ کیلوگرم بدست آورد (زویر، ۲۰۰۵). اختلاف در گزارشات به عواملی ارثی، محیطی و اثر متقابل این دو مربوط می شود (زویر، ۲۰۰۵).

بر اساس نتایج بدست آمده در شرایط تنش میزان عملکرد دانه در رقم پروگرس در شرایط بدون محلول پاشی با سلنیوم ۱۷۱۰ کیلوگرم در هکتار و در شرایط محلول پاشی با سلنیوم ۱۹۷۰ کیلوگرم در هکتار از بالاترین مقدار برخوردار بود. در شرایط نرمال میزان عملکرد دانه در رقم پروگرس در شرایط بدون محلول پاشی با سلنیوم با ۳۱۲۵ کیلوگرم در هکتار و در شرایط محلول پاشی با سلنیوم با ۳۳۰۸ کیلوگرم از بالاترین مقدار برخوردار بود (اشکال ۱و۲). افزایش عملکرد رقم پروگرس به علت افزایش وزن هزار دانه و تعداد دانه در طبق بود. نتایج بدست آمده با نتایج مطالعات تیموتی (۲۰۰۱) مطابقت دارد (اسمیت، ۱۹۹۶).

جدول ١۶. تجزیه واریانس صفات مورد نظر

Table1.Analysis of variance for measurd traits.

s.o.v	df	Yield		MDA		8-OH-DG		DI-TY	
		MS	.Prob	MS	.Prob	MS	.Prob	MS	.Prob
سال	١		٠/٨٢٣۶	٠/٠٠٠٠۴	٠/١٩١۵	٧٧٢۶۴١٠	٠/٠٠٠١**	١٨/٢٨۵٨	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل تکراروسال	٣	٠/٠٠١٨	٠/٣٠٨٠	٠/٠٠٠٠٢	٠/۶۴٣۵	٢٣٢۴٣/٨٠	٠/٠٠٠١**	٢/١۴٠۵	٠/٠٠٠١**
آبیاری	١	۶٩/٨۶٧٧	٠/٠٠٠١**	٠/٧٩۵٢۴	٠/٠٠٠١**	۴٢٩٩۴٠/٢٣	٠/٠٠٠١**	٣٢٧/٨٩٩۴	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل تکراروسال وآبیاری	٣	٠/٠٠٠۵	٠/٩٢٠٠	٠/٠٠٠٠٢	٠/٣٢۵٧	٣۵۶۴٠/٩٠	٠/٠٠٠١**	۴/٧٠٩۴	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل سال وآبیاری	١	٠/٠٠٠٢	٠/۵٩٣٣	٠/٠٠٠٠٣	٠/٣۴٧۶	٩٩۶٠/٨٣	٠/٠٠٠١**	١/۴٩١٨	٠/٠٠٠١**
واریته	۴	٢/٢٧٠۴	٠/٠٠٠١**	٠/٠٣٣٨۴	٠/٠٠٠١**	١٢٨٩۵١/٨٣	٠/٠٠٠١**	٨۶/۵۴٣٠	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل واریته وآبیاری	۴	٠/١٨٩٨	٠/٠٠٠١**	٠/٠٠٢٠۴	٠/٠٠٠١**	۴۴٠١٠/٧۴	٠/٠٠٠١**	١۴/٢۵٣١	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل سال وواریته	۴	٠/٠٢٩۵	٠/٠٠٠١**	٠/٠٠٠٠۵	٠/١٠٣٣	٣٣۴٨/۴۶	٠/٠٠٠١**	۶/۶۴٣٢	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل سال وآبیاری وواریته	۴	٠/٠۵٧۵	٠/٠٠٠١**	٠/٠٠٠١٩	٠/٠٠٠١**	۵٣۵۴/١٠	٠/٠٠٠١**	٢/۴١۶٢	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل سال وآبیاری وواریته وتکرار	۴٨	٠/٠٠٣۶	٠/٠٠٠۶**	٠/٠٠٠٠۴	٠/٠١۶٣	۴٠۵۶/۶١	٠/٠٠٠١**	٠/٧٧۴٠	٠/٠٠٠١**
سلنیوم	١	١/٢٨٩٢	٠/٠٠٠١**	٠/٠٠١٣٢	٠/٠٠٠١**	٧۵۴٢٩/٢٣	٠/٠٠٠١**	٣٣/٢٩٧١	٠/٠٠٠١**
اثرمتقابل سلنیوم وآبیاری	١	٠/٠۶۴١	٠/٠٠٠١**	٠/٠٠١٠٠	٠/٠٠٠١**	۴٠٣/٢٣	٠/٠٠٠١**	٠/٠٢١٩	٠/۴۴۴٩
اثرمتقابل سلنیوم وواریته	۴	٠/٠٠٨٣	٠/٠٠٠٧**	٠/٠٠٠٠۶	٠/٠۵٣٢	١٢٢٣/١۵	٠/٠٠٠١**	٠/٠١٨٨	٠/٧٢٩۵
اثرمتقابل سلنیوم وواریته وآبیاری	۴	٠/٠٠٨۵	٠/٠٠٠۶**	٠/٠٠٠٠٣	٠/٣٠٨٩	۶٧٩/٩٣	٠/٠٠٠١**	٠/۴٢١۵	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل سال وسلنیوم	١	٠/٠٠٠٣	٠/۶۵٧٧	٠/٠٠٠٠١	١/٠٠٠٠	١۶/٩٠	٠/٨٢۶٠	٠/١٣٠۵	٠/٠۶۵١
اثر متقابل سال وآبیاری وسلنیوم	١	٠/٠٣۵١	٠/٠٠٠١**	٠/٠٠٠٠٢	٠/٣٢۵٧	٣٧۶٣/۶٠	٠/٠٠١٧**	٠/۶٨۵١	٠/٠٠٠١**
اثر متقابل سال وواریته وسلنیوم	۴	٠/٠٠٨٨	٠/٠٠٠۵**	٠/٠٠٠٠٣	٠/٢۵٧٣	١٢١٩/٢٠	٠/٠١٢١**	٠/٠۵٢١	٠/٢۴١۴
اثر متقابل سال وآبیاری وواریته وسلنیوم	۴	٠/٠٠٣٢	٠/٠٨۶٨	٠/٠٠٠٠٣	٠/٢٩٧٩	۶٢۴/٣٧	٠/١۴٠۶	٠/٠۴۶١	٠/٣٠٠۵
خطا	۶٠	٠/٠٠١۵		٠/٠٠٠٠٢		٣۴۶/٨۴		٠/٠٣٧٠	
٪.C.V		٪١/۶٧٣٩		٪١/۵۵٨٧		٪٢/٩١٢۶		٪٢/١۶٣١	

Yield: عملکرد MDA: مالون دی آدئبد 8-OH-DG: دی هیدروکسی گوآنوزین

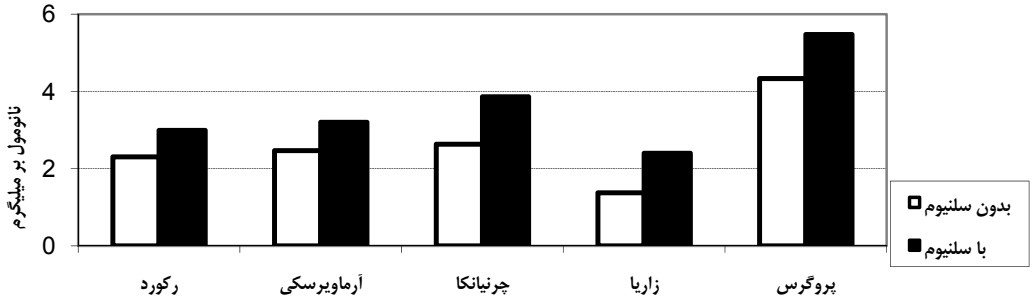
Di-TY: دی تیروزین **, معنی دار در سطح ٩٩٪.

دی هیدروکسی گوآنوزین

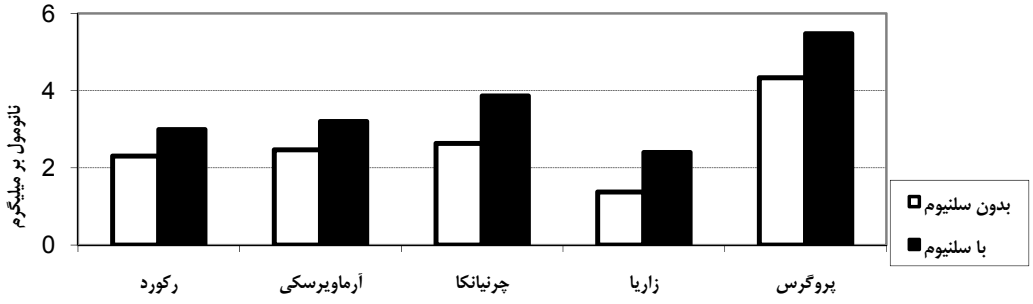
نتایج تحقیقات نشان داد که از لحاظ سطح فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین اختلاف معنی داری در سطح ۹۹ درصد در بین تیمارهای آبیاری وجود دارد (جدول۱) بطوریکه تحت شرایط تنش خشکی میزان دی هیدروکسی گوآنوزین به اندازه ۲۰ درصد افزایش نشان داد (اشکال ۳ و ۴). نتایج بعضی تحقیقات بر روی گندم پاییزه نشان داد که دی هیدروکسی گو انوزین فرآیند حذف H2o2 را در تنشهای اکسایشی کاتالیزورمی کند.بطوریکه اگر گیاه در مرحله تولید سنبله با ترکیبی از عنصر روی و سلنیوم محلول پاشی شود میزان فعالیت این آنزیم بطور معنی داری افزایش می یابد (استیون، ۱۹۸۷).

بر اساس نتایج بدست آمده اختلاف معنی داری در سطح ۹۹ درصد بین میزان فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین با تیمارهای آبیاری، واریته ها، سلنیوم، اثر متقابل آبیاری و سلنیوم اثر متقابل واریته و سلنیوم، اثر متقابل آبیاری واریته و سلنیوم و اثر متقابل سال، آبیاری، واریته و سلنیوم مشاهده شد (جدول۱). وجود اثرات متقابل مزبور بدلیل تفاوت در روند تغییرات فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین تحت اعمال تنش و سلنیوم در ارقام مورد بررسی است. با توجه به اینکه اعمال تنش خشکی و استعمال سلنیوم اثرات مشابه بر روی ارقام می گذارند منطقی است که اثرات متقابل معنی دار شوند (استوین، ۱۹۸۷).

محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم میزان فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین را چه در شرایط تنش و چه در شرایط نرمال به میزان ۱۷ درصد افزایش داد (اشکال ۳ و۴).



شکل ۳. میزان فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین تحت تاثیر سلنیوم در شرایط تنش درواریته های آفتابگردان روغنی.
Fig3.8-OH-DG affected with selenium at water deficit condition in oil sunflower varieties.



شکل ۴. میزان فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین تحت تاثیر سلنیوم در شرایط معمولی درواریته های آفتابگردان روغنی.
Fig4.8-OH-DG affected with selenium at normal condition in oil sunflower varieties.

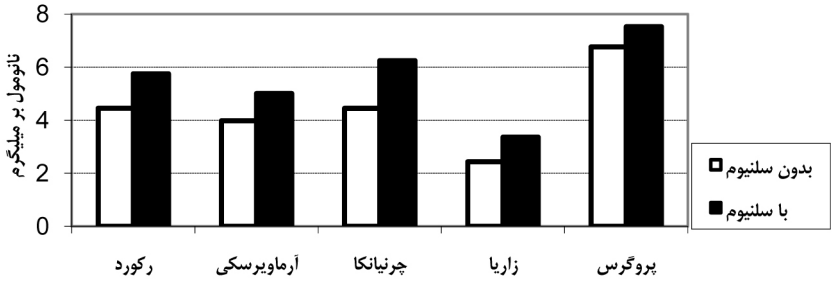
بر اساس نتایج بدست آمده در شرایط تنش میزان دی هیدروکسی گوآنوزین در رقم پروگرس بدون محلول در شرایط پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در حدود ۴/۳۳ (نانومول بر میلی گرم) و در شرایط محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در حدود ۵/۴۸ (نانومول بر میلی گرم) از بالاترین مقدار برخوردار بود.در شرایط معمولی میزان دی هیدروکسی گوآنوزین در شرایط بدون محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در رقم پروگرس ۳/۱۰ (نانومتر بر میلی گرم) و در شرایط محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در حدود ۴/۳۹ (نانومول بر میلی گرم) از بالاترین مقدار برخوردار بود (اشکال ۳ و۴). زویر و همکاران (۲۰۰۵) اعلام کردند که وجود یک عنصر واسطه مانند سلنیوم می‌تواند واکنش به تنش کمبود آب را تحریک کند ومیزان فعالیت مارکرهای فیزیولوژیک از جمله دی هیدروکسی گوآنوزین از طریق مهار پراکسید هیدروژن را افزایش دهد (۲۸).آنها میزان فعالیت این بیومارکر در آفتابگردان تحت تاثیر سلنیوم وتنش کمبود آب را ۴/۴۲ (نانومول بر میلی گرم) ذکر کرده بودند (زویر،۲۰۰۵).پس می‌توان به این نتیجه دست یافت که بیومارکرها می‌توانند از تخریب واز بین رفتن سلول دربرابر تنش خشکی و متعاقبا حذف اثرات مخرب پر اکسید هیدروژن مد نظر قرار گیرند بطوریکه افزایش فعالیت دی هیدروکسی گوآنوزین تحت تاثیر سلنیوم عمدتا به همین عامل مربوط می شود.

دی تیروزین

نتایج تحقیقات نشان داد که از لحاظ سطح فعالیت بیومارکر دی تیروزین اختلاف معنی داری در سطح ۹۹ درصد در بین تیمارهای آبیاری وجود دارد(جدول۱)بطوریکه تحت شرایط تنش خشکی میزان دی تیروزین به اندازه ۲۵ درصد افزایش نشان داد.همچنین مقایسه میانگین هااز طریق آزمون دانکن نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی میزان فعالیت این بیومارکر افزایش می یابد (اشکال ۵ و۶)

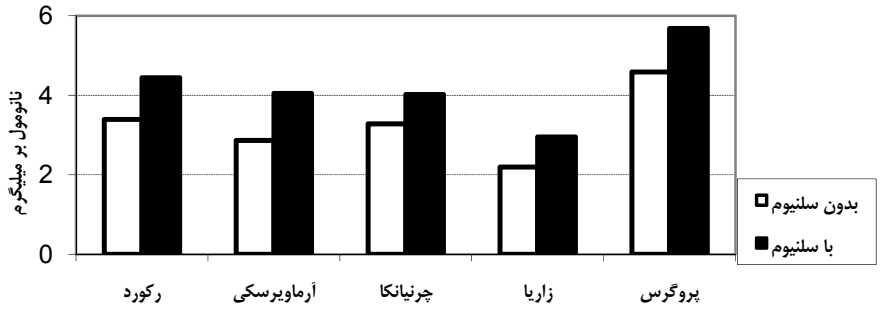
بر اساس نتایج بدست آمده اختلاف معنی داری در سطح ۹۹ درصد بین میزان فعالیت بیومارکر دی تیروزین با تیمارهای آبیاری، واریته ها، سلنیوم اثر متقابل آبیاری، سلنیوم، اثر متقابل واریته و سلنیوم، اثر متقابل آبیاری، واریته و سلنیوم و اثر متقابل سالها آبیاری واریته و سلنیوم مشاهده شد (جدول ۱). بنظر می رسدنا همگون بودن روند تغییرات میزان فعالیت این بیومارکر تحت تاثیر سلنیوم برای ارقام مورد نظر موجب معنی دار شدن اثرات متقابل شده است (زویر، ۲۰۰۵).

محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم میزان فعالیت دی تیروزین را چه در شرایط تنش و چه در شرایط نرمال در حدود ۱۰ درصد افزایش داد (اشکال ۵ و ۶).



شکل ۵. میزان فعالیت دی تیروزین تحت تاثیر سلنیوم در شرایط تنش درواریته های آفتابگردان روغنی.

Fig5.Di-Tirosine affected with selenium at water deficit condition in oil sunflower varieties.



شکل۶. میزان فعالیت دی تیروزین تحت تاثیر سلنیوم درشرایط معمولی درواریته های آفتابگردان روغنی.
FIG6.DTirosine affected with selenium at normal condition in oil sunflower varieties.

بر اساس نتایج بدست آمده در شرایط تنش میزان دی تیروزین در رقم پروگرس در شرایط بدون محلول پاشی برگ توسط عنصرسلنیوم ۶/۷۶ (نانومول بر میلی گرم) و در شرایط محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در حدود ۷/۵۲ (نانومول بر میلی گرم) از بالاترین مقدار برخوردار بود.در شرایط معمولی میزان دی تیروزین در شرایط بدون محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در رقم پروگرس ۴/۵۹ (نانومول بر میلی گرم) و در شرایط محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در حدود ۵/۶۸ (نانومول بر میلی گرم) از بالاترین مقدار برخوردار بود (اشکال ۵ و ۶). اینگونه بنظر میرسد که افزایش سطح دی تیروزین در تیمار تنش آب وتحت تاثیر سلنیوم بدلیل نقش دفاعی و حفاظتی این آنزیم در برابر تنشهای اکسایشی باشد.بعلاوه این افزایش سطح فعالیت باعث کاهش میزان نشت آب از دیواره سلولی تحت شرایط خشکی می گردد. شالاتا (۱۹۹۸) اعلام کرده است که وجود یک عنصر واسطه مانند سلنیوم می‌تواند واکنش به تنش کمبود آب را تحریک کند و میزان فعالیت مارکرهای فیزیولوژیک از جمله دی تیروزین را افزایش دهد ولی کاهش دما موجب آسیب به غشا سلول و در نتیجه کاهش فعالیت این بیو مارکرها می شود (شالاتا، ۱۹۹۸). او میزان فعالیت این بیومارکر در آفتابگردان تحت تاثیر سلنیوم وتنش کمبود آب را ۷/۰۲ (نانومول بر میلی گرم) ذکر کرده بود (شالاتا، ۱۹۹۸). پس می‌توان به این نتیجه دست یافت که بیومارکرها می‌توانند از تخریب واز بین رفتن سلول دربرابر تنش خشکی ومتعاقبا حذف رادیکالهای آزاد اکسیژن مد نظر قرار گیرند بطوریکه افزایش فعالیت دی تیروزین تحت تاثیر سلنیوم عمدتا به همین عامل مربوط می شود.نتایج بدست آمده با نتایج مطالعات شالاتا (۱۹۹۸) مطابقت دارد (شالاتا، ۱۹۹۸).

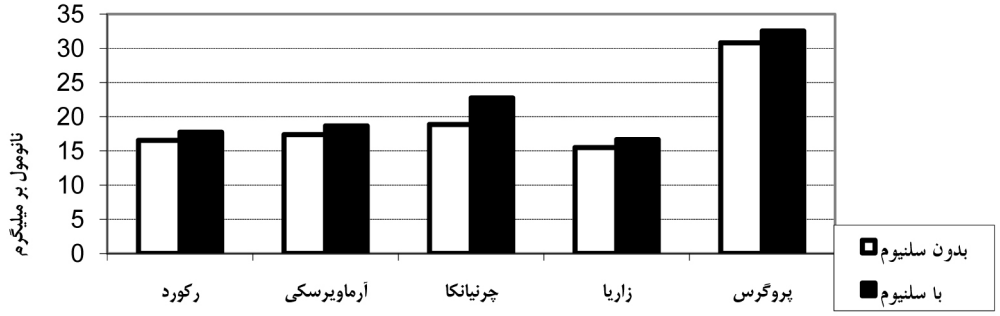
مالون دی آلدئید

نتایج تحقیقات نشان داد که از لحاظ سطح فعالیت مالون دی آلدئید اختلاف معنی داری در سطح ۹۹ درصد در بین تیمارهای آبیاری وجود دارد (جدول ۱) بطوریکه تحت شرایط تنش خشکی میزان مالون دی آلدئید به اندازه ۲۸ درصد افزایش نشان داد. همچنین مقایسه میانگینها از طریق آزمون دانکن نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی میزان فعالیت این بیومارکر افزایش می یابد (اشکال ۷ و ۸).

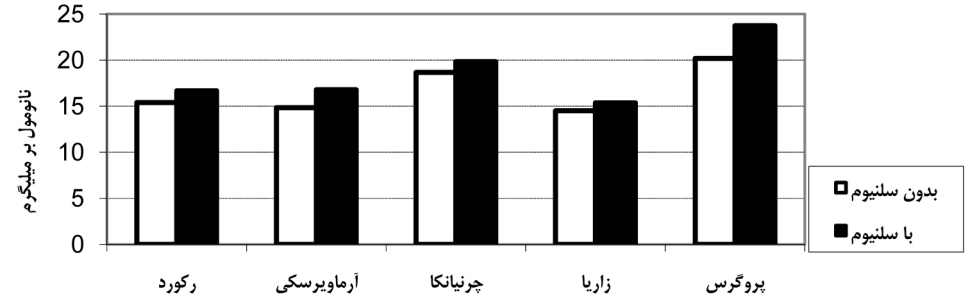
بر اساس نتایج بدست آمده اختلاف معنی دارای در سطح ۹۹ درصد بین میزان فعالیت مالون دی آلدئید با تیمارهای آبیاری، واریته‌ها، سلنیوم، اثر متقابل آبیاری و سلنیوم اثر متقابل واریته و سلنیوم اثر متقابل آبیاری واریته وسلنیوم و اثر متقابل سال، آبیاری واریته و سلنیوم مشاهده شد (جدول ۱).

معنی دار بودن اثرات متقابل مزبور بدلیل تفاوت در روند تغییرات فعالیت مارکرهای بیو شیمیایی در ارقام مورد نظر است.با توجه به اینکه تغییرات پارامتر های مذکور تشابه زیادی با هم دارند منطقی است که وجود اثرات متقابل معنی دار شود.

محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم میزان فعالیت مالون دی آلدئید را چه در شرایط تنش و چه در شرایط معمولی در حدود ۷ درصد افزایش داد (اشکال ۷ و۸).



شکل ۷. میزان فعالیت مالون دی آلدئید تحت تاثیر سلنیوم در شرایط تنش در واریته های آفتابگردان روغنی.
Fig7.Malon di Aldehyde affected with selenium at water deficit condition in oil sunflower varieties.



شکل۸. میزان فعالیت مالون دی آلدئید تحت تاثیر سلنیوم در شرایط معمولی در واریته های آفتابگردان روغنی.
Fig8. Malon di Aldehyde affected with selenium at normal condition in oil sunflower varieties.

بر اساس نتایج بدست آمده در شرایط تنش میزان مالون دی آلدئید در رقم پروگرس در شرایط بدون محلول پاشی برگ با عنصر سلنیوم در حدود ۳۰/۸۱ (۱نانومول بر میلی گرم) و در شرایط محلول پاشی برگ متوسط عنصر سلنیوم درحدود ۳۲/۵۲ (نانومول بر میلی گرم) از بالاترین مقدار برخوردار بود. در شرایط نرمال میزان مالون دی آلدئید در شرایط بدون محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در رقم پروگرس در حدود ۲۰/۱۸ (نانومول بر میلی گرم) و در شرایط محلول پاشی برگ توسط عنصر سلنیوم در حدود ۲۳/۷۳ (نانومول بر میلی گرم) از بالاترین مقدا برخوردار بود (اشکال ۷ و ۸). اینگونه بنظر میرسد که افزایش سطح فعالیت مالون دی آلدئید در تیمار تنش آب وتحت تاثیر سلنیوم بدلیل نقش دفاعی و حفاظتی این بیومارکر در برابر تنشهای اکسایشی باشد. بعلاوه این افزایش سطح فعالیت مانع از آسیب رساندن اکسیژن به سلول تحت شرایط خشکی می‌گردد. دیلون (۲۰۰۲) اعلام کرده است که وجود یک عنصر واسطه مانند سلنیوم می‌تواند واکنش به تنش کمبود آب را تحریک کند (دیلون، ۲۰۰۲). او میزان فعالیت این بیومارکر در سویا تحت تاثیر سلنیوم و تنش کمبود آب را ۲۸/۱۲ (نانومول بر میلی گرم) ذکر کرده بود (دیلون،۲۰۰۲). پس می‌توان به این نتیجه دست یافت که بیومارکرها در جلوگیری از تخریب واز بین رفتن سلول در برابر تنش کمبود آب نقش دارند بطوریکه که بیومارکرها بعنوان یک منبع عکس العمل به گونه های اکسیژن بشمار می‌روند و افزایش فعالیت مالون دی آلدئیدتحت تاثیر سلنیوم عمدتا به همین عامل مربوط می شود. نتایج بدست آمده با نتایج مطالعات دیلون (۲۰۰۲) مطابقت دارد (دیلون، ۲۰۰۲).

فهرست منابع References

۱- خورشیدی، م. ب، رحیم زاده خویی. م، ج، میر هادی و ق.نور محمدی ۱۳۸۱. بررسی اثرات تنش خشکی در مراحل رشد ارقام سیب زمینی. مجله علوم زراعی ایران. جلد چهارم شماره یک. ص ۴۸.

2- Ananieva, E.A., V.S.Alexieva.L.P.Popova, 2002. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat photosynthesis.J.Plant Physiol, 159:685-693.

3- Asada, k. and M. Takahashi. 1987. Production and scavenging on active oxygen in photosynthesis. In photoinhibition (kyle.D.J.etal.eds).pp.227-287. Elsevier.

4- Bogdanov, M.F. and M.B, Bical.1999.A carbon column based LCEL approach to routine 8-oh-dg measurements in biological matrices. Free Radical, Biol, Med.27:643-666.

5- Bolwer, C., etal.1992.Super oxide dismutases and stress tolerance. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.43:83-116.

6- Crey, K. F. 1990.The antoxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and Mechanisms. Biochem. Sec. Tran. 18: 1041-1045.

7- Dat, J. etal. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cell. Mol. Life Sci. 57: 779-795.

8- Dhillon, K. S. 2002. Selenium enrichment of the soil plant system for a seleniferous region of northwest India. Journal of Hydrology.272:120-130.

9- Dixon, D. P etal.1998. Glutathione – mediated detoxification system in plant. Curropin. Plant Biols. 1:258-266.

10- Harman, F. 1995. Superoxide radial and superoxide dismutases. Ahn. Rev. Biochem. 64:97-112.

11- Hou, W.C and Y.H. Lin. 2003. Activities of superoxide dismitasse and glutathione peroxides in leaves of different cultivars of Liriope spicata.L. on 10% SDSPAGE gels. Boot. Bull Acad.Sin. 44.37.41.

12- Jose, M.M., C. Perez Gomez and I.C.N. Esparto. 1999. Chemical Biochemistry.Vol: 32.No.3. 595-608.

13- Kocsy, C. R. and T.K.Prasad. 2000. Genetic study of glutathione accumulation during cold hardening in maize seedlings. Hort Science.29:955-957.

14- Lowry , O. and R. Radall. 1951. Protein measurement with folin phenol reajent. Journal Bidoglcal Chemistry. 193; 680-685.

15- Misra , H. P and I. Fridorich. 1979. The generation of superoxide radical during photoxidation.J.Biol. Chem.247:6960-6966.

16- Navari , F and M.F. Quartacci 1999. Superoxide and hydroxyl radical generation and superoxide dismutase in psII membrane fragments from wheat. Free.Rad.Res.31:53-56.

17- Paglia, D.E and W.N. Valentine. 1987. Studies on the qualitative characterization of glutathione peroxides. J. Lab. Med. 70:158-16s.

18- Quartacci , M. F. and F, Dalla. 2000.Growth in excess copper induces changes in lipid composition and fluidity of psII enriched membrane in wheat. Physiol Plant. 108: 87- 93.

19- Rahman, S.M., L.Mackay and B, Quebedeaux. 2004. Superoxide dis-mutase and stress tolerance of four tomato cultivars. Plant Physiol.110:125 136.

20- Rao, M. and G. Ormrod. 1996. Ultraviolet and ozone induced changes in the antioxidant enzymes of Arabidopsis thalina. Plant Physiology. 110:125-136.

21- Sgherri, C.L.M., M. Maffei and F.N. Izzo. 2000. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering: universita degli studidi. Pisa, via s. Michele degli Scalzi, 2,

1-56124.Pisa, Italy.

22- Shalata, A. and M.Tal.1998.The effect of salt stress on lipid proxidation and antioxidants on the leaf of cultivated tomato and its wild salt- tolerant Lycopersicum pennellii, Physiological Plant arum.104:169-174.

Siranov, M.1998.The effect of cold hardening on Glutathione activity in maize. J.Lab.Med.181:75-81.

Smith, M.A and C.R.Peery.1996. Oxidative damage in Alzheimer. Nature. 362:120-121.

Steven, H and M.H.Sidney.1987. Lipid peroxidase in samples as measured by liquid-chromatography. Separation or malon di aldehyde tiobarbituric acid. Elin. Chem.32:214-220.

Timothy, P. 2001. Effect. of selected selenium status: Implications of oxidative stress. Biochem. Pharm. 62:273.281.

Willekens, H. Et al. 1997. Catalos are a sink for H202 and indispensable for stress defense in C3 plants. Ambo. 16: 4806-4816.

Zoyer , C. , J. E. Dat and I. M. Scott. 2005. Hydrogen peroxide in oilseed sunflower.Physiol. Plantarum.241_ 254.