مجموعه مقالات
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹٤، پژوهشکده کشاورزی هسته ای)
The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

تاثیر پرتو دهی با اشعه گاما بر مقدار پرولین و ترکیبات فنولی در گیاه گندم تحت تنش شوری خاک

مژگان مصاحبه[1*] ، حسن فرید نوری[2]،مهدی خورشیدی[2]،فرزانه مصباحی[3]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه سراسری دامغان-
۲- استادیار دانشکده زیست شناسی دانشگاه سراسری دامغان
۳-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه سراسری دامغان
M.h.mosahebeh@gmail.com

چکیده: غذا اولین سطح از هرم نیازهای انسان را تشکیل می دهد و تامین آن برای عموم افراد جامعه اولین وظیفه دولت هاست.امنیت غذایی به منظور دسترسی همه مردم در همه زمان ها به غذای کافی برای داشتن یک زندگی سالم و پویاست. از نظر ساختار جمعیت ایران کشور جوانی است. گندم گیاهی است که ماده اولیه بخش عمده ای از مواد غذایی را تشکیل داده است که به دلیل شوری خاک تولیداتش با محدودیت مواجه است.هدف ما در این پژوهش مقاوم سازی بذر گندم به تنش شوری خاک بوده و به همین جهت بذرهای گندم از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی شهرستان دامغان با مشخصه (رقم:الوند،ضدعفونی شده با {دیودنت یک در هزار} و درجه خلوص۹۸٪)تهیه شد.و پرتو دهی در مرکز کشاورزی انرژی اتمی کرج صورت پذیرفت .پرتو دهی با منبع کبالت۶۰و با اکتیویته ویژه ۱۰۰۰کیلو کوری انجام پذیرفت. (dose rate=0.3gy/per second). دوزهای پرتودهی ۲۵۰،۲۰۰،۱۵۰،۱۰۰ گری بودند. دوزهای شوری ۰،۲۵،۱۰۰میلی مولار انتخاب شد و به صورت آبیاری بوده است .پس از برداشت اندام هوایی میزان پرولین و ترکیبات فنولی محاسبه گردید.در این پژوهش دوزهای ۱۰۰و۱۵۰به گیاه به جهت ایجاد مقاومت به تنش شوری کمک قابل توجهی داشته ولی با افزایش دوز مقادیر فاکتورهای ذکر شده کاهش یافته است.نتیجه کلی از این پژوهش این است که:با استفاده از پرتودهی گاما در دوزهای پایین می توان بر تنش شوری غلبه کرد.

واژگان کلیدی: پرتو گاما ، پرولین ،ترکیبات فنولی ، گیاه گندم ، تنش شوری خاک.

The effect of gamma irradiation on Proline and phenolic compounds in wheat under the soil salt stress

Mojgan Mosahebeh[1], Hasan Faridnouri[2], Mahdi Khorshidi[2], Farzaneh Mesbahi[3]
1. Plant physiology graduate student at the National University of Damghan.
2. Professor Assistant School of biology at the National University of Damghan
3. Plant physiology graduate student at the National University of Damghan.
M.h.mosahebeh@gmail.com

Abstract: The first level of the hierarchy of human needs is food. The first duty of government is to provide for the general population . Food security for all people at all times have access to sufficient food to maintain a healthy and dynamic life. Iran is a young country in terms of population structure. Wheat has established a major part of food first material That its production was limited due to soil salinity. The main aim of this research was to the retrofitting wheat seed to soil salinity stress .therefore wheat seed Prepared from agricultural research center, seed characteristics: (Alvand, disinfected). seeds irradiated with gamma dose 100,200,300,400Gy(60 Co source,Dose rate:0.3Gy/per second). Irradiation was performed at the Atomic Energy Organization of Karaj. Salinity treatments were performed at doses of 0, 25, 100 m. M Nacl. After harvesting the shoots proline and phenolic compounds was calculated. In this study, doses of 100 and 150 Gy, has been resistance to salinity.But with increasing dose levels above factors is reduced.

The general conclusion from this research is that the use of low doses of gamma radiation can be overcome salt stress.

Keywords: Gamma radiation, Proline, phenolic compounds, wheat, Soil salinity stress.

مقدمه:

غذا اولین سطح از هرم نیازهای انسان را تشکیل می دهد و تامین آن برای عموم افراد جامعه اولین وظیفه دولت هاست.امنیت غذایی به منظور دسترسی همه مردم در همه زمان ها به غذای کافی برای داشتن یک زندگی سالم و پویاست. از نظر ساختار جمعیت ایران کشور جوانی است.طبق اخرین امار سرشماری در سال۲۰۰۹برابر ۷۴میلیون نفر بوده است و طبق براوردهای به عمل آمده توسط سازمان ملل و جمعیت شناسان به بیش از ۸۷میلیون نفر در سال ۲۰۲۵خواهد رسید. (۱)کشور ایران برای تامین امنیت غذایی و پاسخگویی به نیازهای جمعیت خود نیاز به یک مدیریت کارآمد دارد تا بتواند دانش،فناوری،وفنون موثر را به کار گیرد و به محدودیت های موجود که تولیدات کشاورزی را کاهش می دهد،غلبه کنند.گندم گیاهی است که ماده اولیه بخش عمده ای از مواد غذایی را تشکیل داده است که به دلیل شوری خاک تولیداتش با محدودیت مواجه است.مناطق خشک و نیمه خشک در سطح دنیا گسترش دارند و سطح زیادی از کره زمین را شامل می شوند و حدود ۳۴۴میلیون هکتار از سطح خشکی ها را خاک های شور می پوشانند و کشور ایران نیز در کمربند خشکی جهان واقع شده است از این امر مستثنی نیست(۲) در حال حاضر استفاده از گیاهان و ارقام مقاوم به شوری و کم آبی یکی از مهم ترین روش های موثر در بهره برداری و افزایش عملکرد هکتاری در مناطق خشک و نیمه خشک جهان است.مرحله جوانه زنی گیاه مرحله حساس و مهمی است که می تواند با استقرار مطلوب گیاهچه ها در فرایند تولید نقش مهمی ایفا نماید(۳).پرتو گاما انقلابی در پژوهش های حال حاضر در زمینه های کشاورزی و مواد غذایی پدید آورده است(۴) پرتو گاما متعلق به گروه الکترومغناطیس و یونیزان است که به دلیل طول موج بسیار کم،نفوذپذیری بالایی دارد و برای بهبود و کیفیت بهداشت مواد غذایی و کاهش تلفات ناشی از آلودگی میکروبی و حشرات در گیاهان استفاده می شود(۵)استفاده از دوزهای مختلفی از پرتو گاما یکی از دستاوردهای مهم مقوله انرژی هسته ای است که می تواند به بهبود کیفیت محصولات کمک کند.کیم و همکارانش در سال۲۰۰۴نشان دادند که استفاده از دوزهای پایین پرتو گاما اثرات چشم گیری در پارامترهای رشد و جوانه زنی در انواع کلم چینی داشته است(۶)و هم چنین منجر به تغییرات مفید نظیر تغییر ژنتیکی گیاهان زراعی، ارتفاع بوته ها،غلاف بوته و تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه و درصد روغن و مقاومت در برابر آفت ها می شود(۷)و هم چنین پرتو گاما باعث بهبود محصولات کشاورزی می شود(۸) .هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر ۴ دوز از پرتو گاما بر میزان مقاومت بذر گندم به شوری خاک و یافتن دوز های قابل اطمینان به جهت تولید گندم مقاوم به شوری بوده است.

مواد و روش ها:

بذرهای گندم از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی شهرستان دامغان با مشخصه (رقم:الوند،ضدعفونی شده با {دیودنت یک در هزار} و درجه خلوص۹۸٪)تهیه شد.و پرتو دهی در مرکز کشاورزی انرژی اتمی کرج صورت پذیرفت .پرتو دهی با منبع

کبالت۶۰و با اکتیویته ویژه ۱۰۰۰کیلو کوری انجام پذیرفت. (dose rate=0.3gy/per second). دوزهای پرتودهی ۲۵۰،۲۰۰،۱۵۰،۱۰۰ گری بودند.دوزهای شوری ۰،۲۵،۱۰۰میلی مولار انتخاب شد و به صورت آبیاری بوده است.قبل از کاشت، بذرها به مدت ۴ساعت درآب مقطر خیسانده شد ،سپس بذرها در درون پتری دیش هایی که در کف آنها کاغذ صافی مرطوب قرار داشت ریخته و به مدت ۲۴ساعت درون انکوباتور با دمای۲۷درجه گذاشته شد.پس از ظهور اولین نشانه های جوانه زنی بذرها به گلدانهایی با حجم ۱,۵کیلو منتقل شدند .تیمار آب شور به صورت هر سه روز یک بار و به مقدار پنجاه میلی لیتر انجام پذیرفته است.نمونه ها در قالب طرح فاکتوریل با سه تکرار، در ۱۱ گروه و ۳۳ عدد گلدان قرار گرفتند.
گروه ها به شرح زیر بودند:

گروه ها	غلظت تیمار نمک بر حسب میلی مولار (NACL)	دوز پرتوبر حسب گری(Gy)
G1	0	0
G2	25	0
G3	100	0
G4	25	100
G5	100	100
G6	25	150
G7	100	150
G8	25	200
G9	100	200
G10	25	250
G11	100	250

ترکیبات فنلی:0.1گرم از بافت گیاهی را در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ ساییده شد و به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ اضافه گردید و با آب مقطر حجم محلول به ۵ میلی-لیتر رسانده شد، سپس ۰,۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰٪ و ا میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵٪ به آن اضافه گردید، مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگهداری شد و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵nm خوانده شد(Gao et al.،2000) [10].

تهیه‌ی منحنی استاندارد: غلظت‌های ۰,۰۰۲، ۰,۰۰۵، ۰,۰۱،۰,۰۲،۰,۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گالیک اسید تهیه شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از هرکدام از هر کدام از غلظت‌های ذکر شده را در یک لوله آزمایش ریخته و بقیه‌ی مراحل طبق نمونه‌های مجهول انجام شد و جذب نمونه در طول موج ۷۲۵ nm با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل(uv.2100pc) خوانده شد و منحنی جذب بر حسب غلظت رسم گردید.

$$Y= ٤١/٢٨ X - ٠/٠٣٤$$

در این معادله Yبرابر جذب خوانده شده و Xغلظت پروتئین بر حسب $mg.ml^{-1}$ می‌باشد نتایج حاصل از آنالیز بر حسب $mg.gFW^{-1}$ ارائه شد.

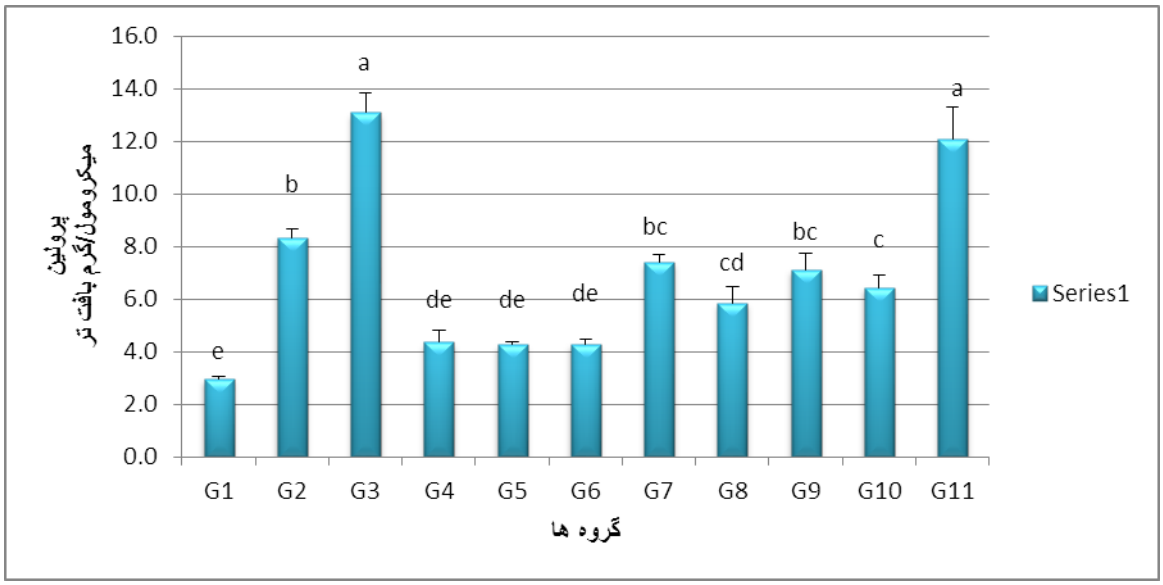
مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در سانتریفوژ یخچال دارمدل(5430R شرکت eppendorf) سانتریفوژ گردید.

روش اندازه گیری پرولین: ۰,۰۲ گرم از بافت تازه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ اسید سولفوسالیسلیک سائیده و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰دور سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص گلاسیال مخلوط کرده و یک ساعت در دمای $100^{\circ}C$ حمام آب گرم قرارداده شد بعد از این مدت جهت قطع انجام کلیه‌ی واکنش‌ها لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید، سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله به خوبی تکان داده شد با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه، ۲ لایه‌ی کاملاً مجزا تشکیل شد. از لایه‌ی رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود برای اندازه گیری غلظت پرولین استفاده گردید. جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد شاهد برای صفر نمودن دستگاه تولوئن می‌باشد، مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید. نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار پرولین بر حسب $\mu mol.gfw^{-1}$بیان گردید. منحنی استاندارد:محلول‌هایی با غلظت ۱، ۴، ۱۶، ۲۰، ۴۰، ۵۰ میکرومولار تهیه و مطابق آنچه در مورد عصاره گفته شد عمل کرده و منحنی استاندار جذب آنها رسم گردید . $Y=0.009X+0.061$

Y برابر جذب خوانده شده وX برابر غلظت پرولین برحسب میکرومولار است. نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب $\mu mol.gFW^{-1}$بیان گردید.[11]

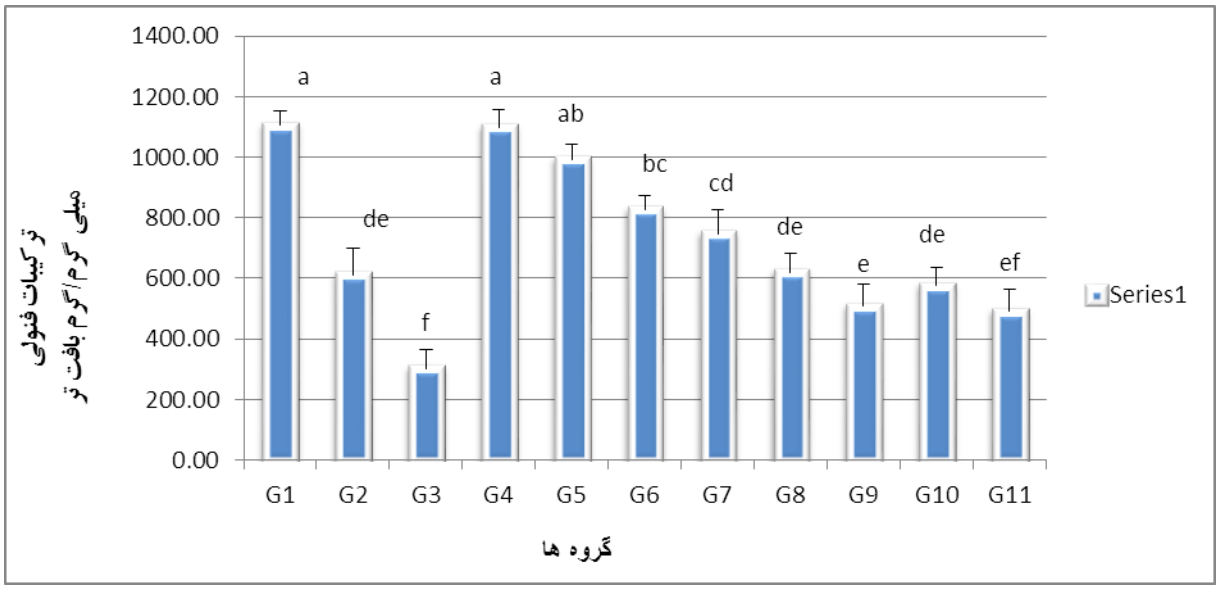
نتیجه گیری و بحث:

تاثیر تنش شوری بر میزان پرولین:همان طور که در نمودار شماره ۱مشاهده می کنید تنش شوری باعث افزایش قابل توجهی در میزان پرولین بوده است و البته باید متذکر شد که پرولین در شرایط استرس در گیاه افزایش می یابد و طبق آنالیز داده ها پرتو دهی با دوزهای پایین۱۰۰و۱۵۰ گری باعث کاهش غلظت پرولین شده و گیاه تا حدودی با توجه به وجود تنش شوری با آن مقابله کرده ولی دوز۲۵۰گری خود عاملی برای ایجاد تنش بوده و میزان پرولین در این دوز کاهش یافته است.و این نتایج مطابق است با پژوهش های اخیر که بیان می دارد:پرتوتابی می تواند منجر به افزایش درصد جوانه زنی و پرولین و پروتیین و کلروفیل در گیاه نخود در شرایط تنش شود.نمودار زیر میزان غلظت پرولین برحسب میکرومول/گرم بافت تر گیاه در ۱۱گروه که قبلا معرفی گردید به نمایش گذاشته است.



نمودار شماره ۱: تاثیر تنش شوری و پرتودهی بر میزان غلظت پرولین برحسب میلی مول/گرم بافت تر می باشد. حروف غیر همسان نشان دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین± خطای استاندارد ارائه شده است.

تاثیر تنش شوری و پرتو گاما بر میزان ترکیبات فنولی:اعمال تنش شوری سبب کاهش معنی داری ترکیبات فنولی نسبت به گیاهانی که در شرایط کنترل رشدکرده اند گردید.اعمال پرتودهی در دوزهای ۱۰۰و۱۵۰ تا حدود زیادی با وجود تنش شوری این کاهش را جبران می کند ولی با افزایش دوز ترکیبات فنولی کاهش یافته است می توان نتیجه گرفت که دوزهای پایین به گیاه در مقابله با تنش شوری کمک قابل توجهی کرده ولی دوز های بالا خود عامل ایجاد تنشی مضاعف در گیاه هستند.این نتایج با مطالعات اخیر هم سو است:خواص فیتوشیمیای مثل فلاونوئید،ترکیبات فنولی و آلکالوییید یک اثر غیر مستقیم بر کیفیت گیاه می گذارد.تجزیه و تحلیل فیتوشیمیایی نشان داد که تغییرات در میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوییید در برگ و آلکالوییید در دانه به دلیل تیمار دهی با پرتو است[12].و هم چنین اثر فیزیولوژیکی پرتو گاما این گونه است که با توجه به تشکیل رادیکال های آزاد حاصل از هیدرولیز آب منجر به مدولاسیون سیستم آنتی اکسیدانی و تجمع ترکیبات فنولی و رنگدانه کلروفیل می شود[15][14][13].از دیگر اثرات مثبت پرتو گاما می توان به افزایش فلاوونوئید و آلکالوئید و ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی می شود[16].نمودار شماره ۲ مقدار ترکیبات فنولی بر حسب میلی گرم بر بافت تر در گروه هایی که قبلا معرفی گردید بیان می کند.



نمودار شماره۲: تاثیر تنش شوری و پرتودهی بر میزان غلظت ترکیبات فنولی برحسب میلی گرم/گرم بافت تر می باشد. . حروف غیر همسان نشان دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین± خطای استاندارد ارائه شده است.

تقدیر و تشکر:

از واحد کشاورزی انرژی اتمی کرج که در زمینه پرتودهی بذرها ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

مراجع:

۱-ج.سالم.م مجاوریان.نقش آب در تامین مواد غذایی.سومین همایش ملی مدیریت جامع منابع آب دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی.۱-۹ (۱۳۹۱).

۲. Renjizhou, H. Z. & Y. Fu. 1985. The ecological role of plant resource in the arid regions of China. In Wichens, G. E., Goodin, J. R. and Field, D. V. (Editor). Plants for Arid lands, Allen and Unwind, London. 277-287.

۳. Netondo, G.W., J.C. Onyango, & E. Beck. 2004; Sorghum and salinity: II. Gas exchane and chlorophyll fluorescence of Sorghum under salt stress. Crop Sci. 44:806-811.

٤.Sommers, C.I.I. and Fan, X. (2002): Antioxidant power, lipid oxidation, color and viability of Listeria monocytogenes in beef bologna with gamma radiation and containing various levels of glucose. J. Food Prot., 65: 1750–1755.

5.Farkas, J. (1998): Irradiation as a method for decontaminating food: A review. International Journal of Food Microbiology, 44: 189–204

6. Kim JS, Beek MH, Lee YK, Park YI. 2004. Stimulating effect of low dose gamma ray radiation on the growth and physiological activities of Chinese cabbage cultivars. www.http:// csiro/ publish.com.

7.Javed MA, Siddiqui MA, Kashif M, Khatri A, Khan IA, Dahar NA, Khanzada MH, Khan R. 2003. Development of high yielding mutants of Brassica campestris L. cv. Toria selection through gamma rays irradiation. Plant Sci. 2: 192-195.

8.Wiendl, F.M., F.W. Wiendl, J.A. Wiendl, A. Vedovatto, and V. Arthur. 1995. Increase of onion yield through low dose of gamma irradiation of its seeds. Radiation Physics and Chemistry 46:793- 795٦.

9. Roberts, E.J. and Martin, L.F. (1959) Progress in determining organic non-sugars of sugarcane juice that affect sugar refining, In: Proceedings of the 6th technical session on bone char(ed. Deitz, V.R.)67-99 Bone Char Research Project, Inc.

10. Gao. W.J. (2000). "*The exprimental technology of plant physiology*. *Word Book Press*, *Xian*, 89-258.

11. . Bates, L.S., Waldern, R.P., Tare, I.D. (1973). "Rapid determination free prolin for water stress studies." *Plant Soil*., 29, pp. 205- 207.

12. M. A. Abo-EI-Seoud, M. F. Hashim, and A. M. Farid, "Combined Effect of Gamma radiation and potassium fertilization on growth and coloring matter contents of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.)," in *Proceedings of the 2nd Arab Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy*, pp. 863–874, Cairo, Egypt, 1994.

13. Kovacs, E. and Keresztes, A. (2002). Effect of gamma and UV-B/C Radiation on Plant Cell. *Micron* 33:199-210.

14. Wi SG, Chung BY, Kim JS, Kim JH, Baek MH, Lee JW, *et al*.(2007) Effects of gamma irradiation on
morphological changes and biological responses in plants. *Micron* 38:553‑64.

15. Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol Adv* 27:84‑93.