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)

تأثیر پرتو دهی با اشعه گاما بر هیدروژن پراکسید، مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها در گیاه گندم تحت تنش شوری خاک

مژگان مصاحبه[1*] ، مهدی خورشیدی[2]،حسن فریدنوری[2]،فرزانه مصباحی[3]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه سراسری دامغان
۲-استادیار دانشکده زیست شناسی دانشگاه سراسری دامغان .
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه سراسری دامغان

چکیده: با توجه به شرایط اقلیمی خاص ایران و وجود نواحی خشک و نیمه خشک فراوان ،شوری خاک ،پایین بودن امکان افزایش خاک مساعد مورد استفاده در بخش کشاورزی و ضرورت افزایش تولیدات کشاورزی ، روشهای نوین اصلاح نباتات به جهت مقاوم سازی بذرها حائز اهمیت است.در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود منابع خاکی مساعد از مهم ترین محدودیت های تولید در کشاورزی می باشد. 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 هیدروژن پراکسید، مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها محاسبه گردید .در این آزمایش دوزهای پایین تر باعث شد اثرات سوء تنش شوری تا حدودی تخفیف یابد.در دوزهای پایین میزان هیدروژن پراکسید، مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها به طور معنی دار(حتی با حضور تنش شوری)از گروه شاهد کم تر است.

واژگان کلیدی:پرتو گاما،گندم،تنش شوری، هیدروژن پراکسید، مالون دی آلدئید ،سایر آلدئیدها.

The effect of gamma irradiation on hydrogen peroxide, malondialdehyde and other aldehydes in wheat under salt stress

Mojgan Mosahebeh[*1], Mahdi Khorshidi[2], Hasan Faridnouri[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.

Abstract: Due to the specific climatic conditions of Iran And there is abundant in arid and semi-arid, Soil salinity, low potential to increase favorable soil used in agriculture and the need to increase agricultural production , Modern methods of plant breeding for resistant seeds is important . In arid and semi-arid areas, the lack of fertile soil of the most important constraints in agricultural production. 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 extent of hydrogen peroxide, lipid peroxidation and other aldehydes were calculated. In this experiment, the lower doses caused adverse effects salinity stress somewhat diminish.

Despite the salinity stress, low doses extent of hydrogen peroxide and malondialdehyde (MDA) was significantly lower than the control group.

Keywords: Gamma radiation, wheat, Soil salinity stress, Hydrogen peroxide, Malondialdehyde .

مقدمه:

با توجه به شرایط اقلیمی خاص ایران و وجود نواحی خشک و نیمه خشک فراوان وشوری خاک و پایین بودن امکان افزایش خاک مساعد مورد استفاده در بخش کشاورزی و ضرورت افزایش تولیدات کشاورزی روشهای نوین اصلاح نباتات به جهت مقاوم سازی بذرها حائز اهمیت است.در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود منابع خاکی مساعد از مهم ترین محدودیت های تولید در کشاورزی می باشد.رشد و عملکرد گیاهان در بسیاری از مناطق دنیا تحت تاثیر تنش های محیطی زنده و غیر زنده متعدد محدود می شود(۱).شوری آب و خاک یکی از تنش های مهم در نواحی خشک و نیمه خشک است.و هم چنین شوری خاک یکی از موانع تولید در کشاورزی محسوب می شود.عناصر اصلی ایجاد شوری در خاک ها شامل پتاسیم،کلر،سدیم،منیزیم،سولفات و بور می باشد.علاوه بر این عناصر مس و روی نیز به مقادیر کم در خاک های شور تجمع می یابند.عناصر نمک های محلول از متداولترین عناصر پوسته زمین بوده و به لحاظ فراوانی در بین ۱۵ عنصر اول قرار دارند(۲). کاربردهای انرژی هسته ای در شاخه کشاورزی به ایجاد راهکارهایی به جهت مقاوم سازی گیاهان کمک می نماید.استفاده از پرتو گاما یک روش سریع و جدید برای بهبود خصوصیات کیفی و کمی بسیاری از محصولات است و البته از دوزهای پایین و بالای آن در طب نیز استفاده می شود(۳). هم چنین اثر پرتوهای گاما در توسعه جهش ها و ایجاد تنوع ژنتیکی بسیار موثر است(۴).به دلیل عدم اطمینان از دوزهای متفاوت و کاربرد متفاوت آنها در محصولات کشاورزی بهره برداری از انرژی هسته ای در کشاورزی محدود است(۵).هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر پرتو گاما در ایجاد مقاومت بذر گندم به شوری خاک است ،با توجه به اینکه گندم گیاهی است که دوّمین جایگاه غذایی را در جهان دارد و هم چنین ایران رتبه ششم مصرف گندم را در جهان به خود اختصاص داده است ،ایجاد جهش از طریق پرتودهی میتواند باعث تغییرات مثبتی شود که در نسل های بعدی نیز تکرار می شود و باعث بهبود کمیّت و کیفیت گندم میشود.

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 و دوزهای شوری ۰،۲۵،۱۰۰ میلی 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

پراکسید هیدروژن:

برای انجام این آزمایش از روش Alexieva et al.(2001) استفاده شد. ابتدا ۰,۲ گرم از بافت را با تری کلرواستیک اسید(TCA) ۰,۱٪ هموژنه می‌شود و عصاره به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰دور در سانتریفوژ یخچال دارمدل(5430Rشرکت eppendorf)، سانتریفوژ گردید. سپس به ۰,۵ میلی‌متر از محلول رویی ۰,۵ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم ۱۰ mM با PH= 7.5و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱M اضافه گردید و جذب در طول موج ۳۹۰nm خوانده شد، مقدار پراکسیدهیدروژن در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

رسم منحنی استاندارد: به منظور رسم منحنی استاندارد، از محلول ۳۰٪ پراکسید هیدروژن، محلول‌هایی با غلظت ۰,۰۰۲،۰,۰۰۵،۰,۰۰۷،۰,۱ میکرومولار تهیه و بقیه مراحل مطابق آنچه در مورد عصاره گفته شد عمل کرده و منحنی استاندارد بر حسب غلظت رسم گردید. رابطه (۱): $Y=15.24X+0.055$

در این رابطه Yبرابر جذب خوانده شده و X غلظت پراکسیدهیدروژن بر حسب میکرومولار می‌باشد نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب $nmol.gFW^{-1}$ بیان گردید.[6]

۱ روش سنجش مالون دی آلدئید MDA:

اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید (MDA)به روش Heath and packer (1969)انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم ازبافت تازه برگی وزن شدودرهاون چینی حاوی۳ میلی لیتراسیدتری کلرواستیک(TCA)۵ درصدوهمچنین ۳ میلی لیترTCA ۲۰ درصدحاوی اسیدتیوباربیتوریک (TBA) ۰/۵درصدسائیده شد،عصاره حاصل به مدت یکساعت دربنماری ۹۵ درجه بابستن درب لوله هاباپنبه قرارگرفت.سپس بلافاصله دریخ سردشدودوباره مخلوط حاصل به مدت۵دقیقه در۴۰۰۰g سانتریفوژگردید. شدت جذب این محلول بااستفاده ازاسپکتروفتومتردرطول موج ۵۳۲ نانومترخوانده شدماده موردنظربرای جذب دراین طول موج کمپلکس قرمزMDA-TBAاست،جذب بقیه رنگیزههای غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومترتعیین وازاین مقدارکسرگردیدبرای محاسبه غلظتMDAازضریب خاموشی معادل Mcm^{-1} ۱۵۵ استفاده شدونتایج حاصل ازاندازه گیری برحسب وزن ترمحاسبه وارائه گردیدند. [7]

رابطه(۲): $A = \varepsilon bc$

۲ سایرآلدئیدها :

برای سنجش مقدارسایر آلدئیدهابه روشmeirوهمکاران(۱۹۹۲) انجام شد [۸۰].۰/۲ گرم بافت تازه برگی در ۳ میلی لیترتری کلرواستیک اسید ۵درصدسائیده شد.عصاره حاصل به مدت یک ساعت درحمام آبگرم با دمای ۹۵ درجه سانتیگرادقرارداده شدسپس بلافاصله دریخ خردشده سردگردید،سپس شدت جذب آن درطول موج ۴۵۵ نانومترخوانده شد. جذب سایررنگیزه های غیراختصاصی در۶۰۰نانومترخوانده شدوازاین مقدارکسرگردید.برای محاسبه غلظت این آلدئیدهاازضریب خاموشی معادل Mcm^{-1} ۱۰۳ ×۰/۴۵۷استفاده شداین ضریب خاموشی میانگین ضریب خاموشی برای پنج آلدئیدموردنظراست نتایج حاصل ازاندازه گیری برحسب وزن ترمحاسبه وگزارش شدند.[8]

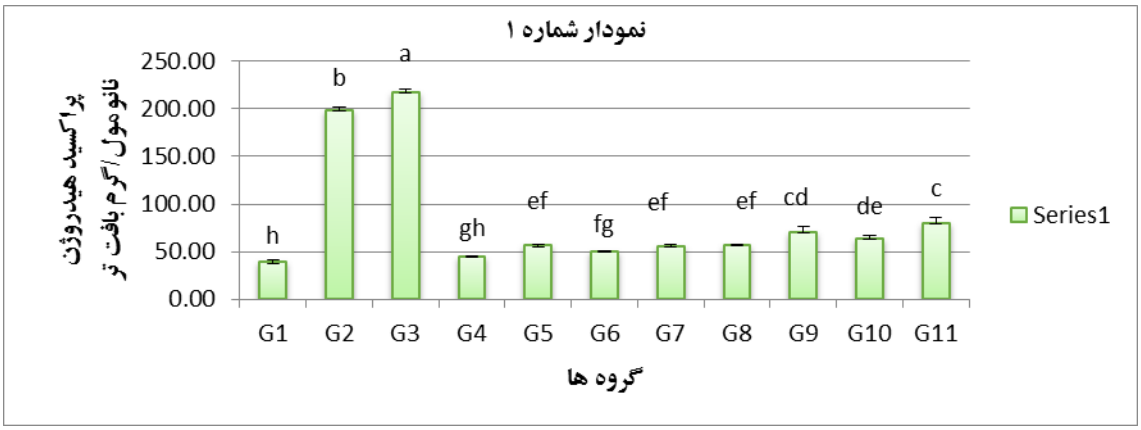
رابطه (۳):

$$C=\frac{A_{455}-A_{600}}{0.457}$$

نتیجه گیری و بحث:

اثر تنش شوری و پرتو دهی گاما بر مقدار هیدروژن پراکسید درگیاه گندم:

با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل زیر میزان پراکسید هیدروژن با افزایش شوری افزایش یافت با استفاده از پرتودهی هم زمان با تیمار شوری مقدار پراکسید هیدروژن به شدت کاهش معنی داری دارد (طبق نمودار۱).همان طور که مشاهده شد پرتو گاما باعث افزایش مقاومت در برابر استرس می شود و باعث بهبود محصولات کشاورزی می شود[10]و[9]. نتایج اخیر با نتایج حاصل از پژوهش ما منطبق است:استرس اکسیداتیو ناشی از تنش منجر به افزایش گونه های اکسیژن فعال همانند سوپراکسید،هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل که بسیار واکنش پذیرند می شود و منجر به آسیب سلولی از طریق اکسیداسیون لیپیدها،پروتئین ها و اسید نوکلئیک می شود[11].نمودار زیر مقدار هیدروژن پراکسید در گروه هایی که قبلا معرفی شده است را نمایش می دهد:

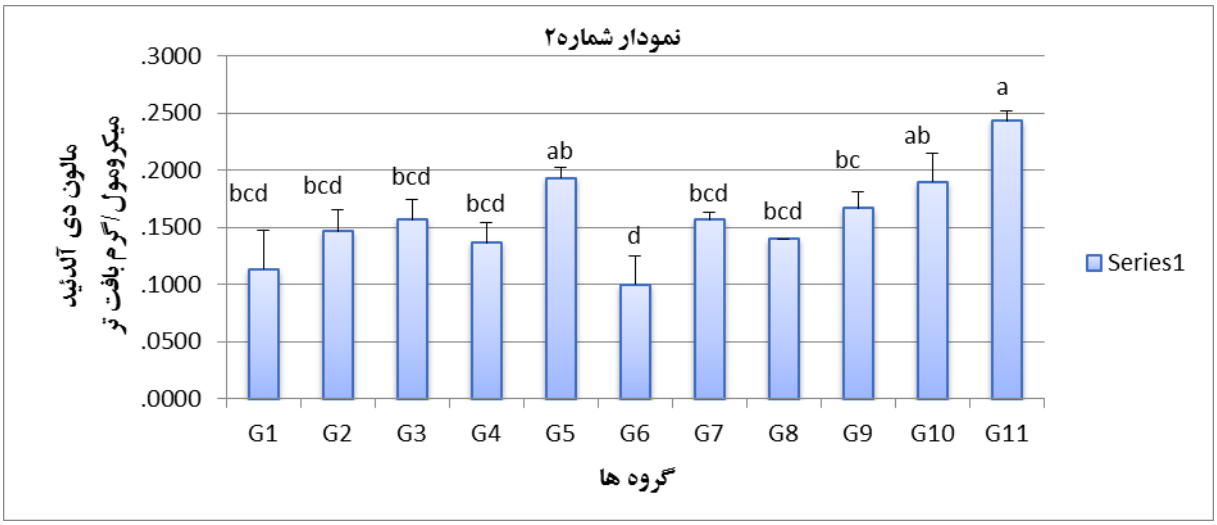


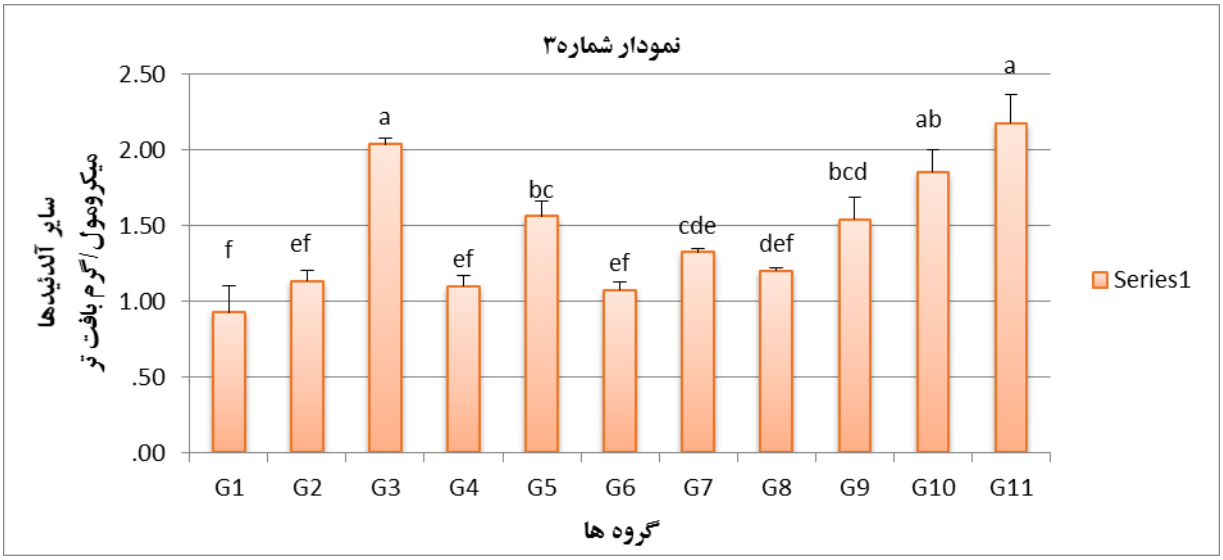
نمودار۱:تاثیر تنش شوری و پرتو دهی گاما بر میزان هیدروژن پراکسید است حروف غیر همسان نشان دهنده وجود تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین± خطای استاندارد ارائه شده است.

تاثیر تنش شوری و پرتو گاما بر میزان مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها:

قرار گرفتن گیاه در تنش شوری سبب افزایش فعالیت گونه های فعال اکسیژن در گیاه شده در نتیجه باعث افزایش مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها می شود که نشان دهنده افزایش آسیب به سیستم غشایی و پراکسیداسیون لیپیدها می باشد،استفاده از پرتودهی در دوزهای پایین تا حدودی باعث ترمیم آسیب ها شده ولی با افزایش دوز این آسیب ها افزایش یافته و باعث افزایش غلظت های مذکور شده است (مطابق نمودار۲و۳). هنگامی که گیاهان در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند با تولید رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون لیپیدها شده و موجب تولید مالون دی آلدئید به عنوان یک محصول تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع می‌گردد [۱۲]. افزایش در محتوای مالون دی آلدئید در شرایط تنش شوری در برنج، خاکشیر، گندم و عدس گزارش گردیده است. همچنین، این اثرات در گیاه Nimphides peltatum تحت تنش فلز مس و یا فلز جیوه، و گیاه نخودفرنگی در شرایط تنش سرما و کمبود آب گزارش شده است. تنش شوری احتمالا موجب اختلال در فرایند انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست شده و با تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن، موجب آسیب اکسیداتیو به غشاء و در نتیجه

افزایش در مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و تولید مالون دی آلدئید در این گیاه گردیده است [۱۳].نمودار های ۲و۳به شرح زیر است:





نمودار شماره۳و٤ : تاثیر تنش شوری و پرتو دهی گاما بر میزان مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها است. 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.لاله س.،جامی الاحمدی.،شریفی،س.و.۱۳۸۸.تاثیر تنش شوری کلرید سدیم با سه روش آزمایشگاهی بر جوانه زنی و رش گیاهچه های گلرنگ.نشریه پژوهش های زراعی ایران.جلد۹.شماره۱.صفحه ۲۷-۱۹.

۲.FAO- UNESCO. 1973. Irrigation, Drainage and Salinity. An International Source Book.

۳. Charbaji, T. and I. Nobulsi, (1999). Effect of low doses of gamma irradiation on in vitro growth of Grapevine. Plant cell Tissue Organ Culture, 57(2): 129-132.

4. . Jan, S. 2011. Developmental and metabolic changes in *Psoralea corylifolia* L. with reference to ionising radiation. PhD thesis (Awarded). Hamdard University, Department of Botany, Jamia Hamdard, New Delhi, India.

5. Peri, I., Babayan,M., Tavassoli, A., Javaheri, M. (2011). The use of gamma irradiation in agriculture. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 5(32), pp. 5806-5811.

6. Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karonov, E. (2001). "The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markeer in pea and wheat." *Plant Cell Environ*., 24, pp. 1337- 1344.

7. . Heath, R.L., Packer, L. (1969). "Photoperoxidation in isolate chloroplast I kenetics and stoichiometry of fatty acicd peroxidation." *Arch Biochem. Biophy*., 125, pp. 189- 198.

8. Allakhverdiev, S. R., Mavituna, M., Ganieva, R. and Nafisi, S. (1998). " Effects of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on photosynthetic activity of Trianea bogotersis." *Turkish Journal of Botany*., No.22, pp. 19-23.

9. Zaka, R., C. Chenal, and M.T. Misset. 2002. Effect of low doses of ionizing radiation on antioxidant enzymes and G6PDH activities in *Stipa capillata* (Poaceae). Journal of Experimental Botany 53:1979-1987.

10. 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-
795.

۱۱ Ben Amor, N., Jimenez, A., Megdiche, W., Lundqvist,M., Sevilla, F. and Abdelly, C. (2007) Kinetics of the anti-oxidant response to salinity in the halophyte *Cakile maritime*. *J. Integrative Plant Biol.*, 49, 982-992.

12.دانشمند، ف.، آروین، م (۱۳۹۰). "پاسخ گونه‌های سیب زمینی خودرو به تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه." *مجله زیست‌شناسی ایران.*، جلد ۲۴، ص ۷۵-۶۵.

13. نوحه پیشه، ز.، منوچهری کلانتری، خ (۱۳۰۹). "اثرات متقابل اسپرمیدین و تنش شوری در گیاه فلفل." *مجله زیست-شناسی گیاهی.*، ص ۸۵۷- ۸۴۷