اثر سطوح تنش خشکی، کود گوگرد و محلول پاشی منگنز بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)

غلامرضا حیدری*[1]، بهنام حسن‌زاده[1]، عادل سی‌وسه‌مرده[1]، یوسف سهرابی[1]، یحیی امام[2]، محمد مجیدی[2]

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف گوگرد و منگنز بر خصوصیات فیزیولوژیک آفتابگردان تحت سطوح مختلف آبیاری، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان در بهار سال ۱۳۸۹، انجام شد. سه سطح آبیاری شامل شاهد (۳- بار)، تنش ملایم (۸- بار) و تنش شدید (۱۲- بار) به عنوان فاکتور اصلی در نظر گرفته شد. دو سطح کود گوگرد شامل عدم مصرف (شاهد) و مصرف ۳۰ کیلوگرم در هکتار و دو سطح کود منگنز شامل عدم مصرف (شاهد) و مصرف یک کیلوگرم منگنز در هکتار به صورت فاکتوریل، به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد تنش خشکی با تأثیر بر تبادلات گازی، میزان فتوسنتز را کاهش داد. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که مصرف کود گوگرد باعث کاهش میزان کلروفیل b شد. تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ (RWC) را کاهش و درصد خسارت به غشای سلولی را افزایش داد. در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری مطلوب، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش و فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش پیدا کرد. علاوه بر این، مشخص شد که کاربرد کود منگنز، فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش می‌دهد. به طور کلی مصرف کود گوگرد نسبت به مصرف کود منگنز به میزان بیشتری باعث افزایش تعدیل اثرات تنش خشکی شد.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، تنش خشکی، فتوسنتز، پراکسیداز، کاتالاز

* نگارنده مسئول: *g.heidari@uok.ac.ir* تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۰

مقدمه

خشکی مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی در سراسر جهان به حساب می‌آید و این عامل باعث ایجاد تنش آبی در گیاه می‌شود و در نتیجه آن تولید کاهش پیدا می‌کند. به طور کلی تنش به معنای فشار شدید اثرات منفی برخی نیروهاست که به توقف عملکرد نظام‌های طبیعی منجر می‌شود (کافی و دامغانی، ١٣٨١).

بسته شدن روزنه‌ها تحت تنش خشکی محدودیت CO_2 را به دنبال دارد که به نوبه‌ی خود به تجمع انواع اکسیژن فعال (ROS) می‌انجامد. انواع اکسیژن فعال شامل رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند رادیکال سوپر اکسید (O_2^-) و رادیکال هیدروکسیل (OH) و نیز پراکسید هیدروژن است (Lima *et al*., 2002) که به وسیله‌ی اکسید کردن رنگدانه‌های فتوسنتزی، چربی‌های غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث خسارت‌های اکسیداسیونی می‌شوند (Sairam and Srivastava, 2002) و به صورت نکروزه شدن سطوح برگ و تخریب دستگاههای فتوسنتزی ظهور پیدا می‌کند، اما سلول‌های گیاهی برخوردار از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانت مقابل خسارت‌های اکسیداتیوی مورد محافظت قرار می‌گیرند (Lima *et al*., 2002). حفاظت در برابر فتواکسیداسیون از طریق زدودن انرژی اضافی بوسیله کاروتنوئیدها و یا از طریق افزایش تجزیه انواع اکسیژن فعال بوسیله افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیوی مانند پراکسیدازها، سوپراکسید دیسموتازها و کاتالازها صورت می‌گیرد (Smirnoff, 1993).

نتایج یک تحقیق نشان داد که در شرایط تنش خشکی فعالیت پراکسیداز به پایداری بیشتر غشای سلولی و کلروفیل منجرمی‌شود و با مقاومت ارقام مختلف گندم به خشکی مرتبط است. در حالی که فعالیت کاتالاز در شرایط تنش خشکی در ارقام مختلف ثابت بود و یا کاهش یافت و رابطه ای بین فعالیت کاتالاز و مقاومت به خشکی مشاهده نشد(جباری و همکاران، ١٣٨٥). در یک پژوهش دیگر مشاهده گردید که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در ارقام حساس به خشکی برنج در شرایط اعمال تنش خشکی کاهش بسیار شدیدی می‌یابد ولی در ارقام مقاوم به خشکی فعالیت آنها زیاد می‌شود (Guo *et al*., 2006). نتایج یک بررسی نشان داد که فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش شوری در گیاه برنج افزایش ولی فعالیت کاتالاز کاهش پیدا می‌کند (Ozdemir *et al*., 2004).

لامیکانرا (٢٠٠٢) در بیان اهمیت پراکسیداز در رشد و نمو درختان و سبزی‌ها بیان کرد که پراکسیدازهادر اندامک‌های همه سلول‌های گیاهی وجود دارند و یکی از ترکیب‌های عادی گیاهان می‌باشند. فعّالیت این آنزیم‌ها می‌تواند در اثر تولید رادیکال‌های آزاد، افزایش و از طریق کاهش رادیکال‌های آزادکاهش یابد. سلوته و چوپرا (٢٠٠۶) مشاهده کردند در گندمی که به خشکی سازگاری پیدا کرده بود، در شرایط تنش شدید خشکی، پتانسیل آب برگ و میزان آب برگ در مقایسه با گندم سازگار نشده به خشکی بیشتر بود. در اثر تنش ملایم خشکی فعّالیت آنزیم‌های پراکسیداز وکاتالاز در گندم سازگار شده به خشکی افزایش یافت و با آبیاری بعد از تنش خشکی، این آنزیم‌ها حالت افزایشی خود را ادامه دادند و در تنش شدید خشکی فعّالیت این دو آنزیم به حداکثر خود رسید. در گندمی که به خشکی

سازگاری نیافته بود فعّالیت این آنزیم‌ها تغییر معنی داری نشان نداد و آبیاری بعد از اعمال تنش خشکی، سبب کاهش فعّالیت این آنزیم‌ها شد. لی پینگ و همکاران (2006) افزایش فعّالیت آنزیم پراکسیداز را در مطالعه تأثیر تنش خشکی بر فعّالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت ذرت، گزارش کردند.

یون‌های فلزی همچون آهن، روی، منگنز و گوگرد به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیمهای آنتی اکسیدانت مشارکت دارند (Baybordi, 2004). گوگرد، حاوی اسیدهای آمینه سیستئین و متیونین می‌باشد و نقش مهمی در ساختار، ترکیب و عملکرد پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در بافت‌های سبز گیاهی دارا می‌باشد (طباطبایی، 1986). نتایج مطالعه‌ی چاکمک (٢٠٠٠) نشان داد که تحت شرایط تنش کمبود عناصر ریز مغذی فعالیت آنزیم‌های انتی اکسیدانت کاهش یافته و بنابراین حساسیت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می یابد. رداپاردی(١٩٨١) اظهار داشت کاربرد ٣٠ کیلوگرم گوگرد در هکتار باعث افزایش رشد ریشه و تشکیل کلروفیل و در نتیجه افزایش فتوسنتز در آفتابگردان می‌شود. اورمان و کاپلان (٢٠٠٧) در آزمایشی نشان دادند که مصرف کودهای گوگرد و روی باعث افزایش محتوی کلروفیل کل در گوجه فرنگی گردید.

مشاهده شده است که جذب منگنز در آفتابگردان تا حد زیادی نسبت به سایر عناصر ریز مغذی بیشتر است و با تأثیر مثبتی که بر اجزای عملکرد دانه دارد، به افزایش عملکرد دانه در آفتابگردان منجر می‌شود (بابائیان و همکاران، ١٣٨٧).

با توجه به اینکه حدود ٧٠ درصد از مساحت ایران را مناطق خشک و نیمه خشک تشکیل می‌دهد که متوسط بارندگی سالانه آنها کمتر از ١٥٠ میلی‌متر می‌باشد (ضمن اینکه این مقدار بارندگی نیز، نامنظم وغیرقابل پیش بینی می‌باشد) و از طرفی نظربه اهمیت زراعت آفتابگردان در کشور و روند روبه افزایش سطح زیر کشت آن و تمایل به افزایش تولیدآن در ایران، این مطالعه جهت بررسی اثر تنش خشکی و کاربرد گوگرد و منگنز بر برخی صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در گیاه زراعی آفتابگردان انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه کردستان واقع در روستای گریزه در چهار کیلومتری جنوب سنندج با ارتفاع ١٣٠٠ متر از سطح آب‌های آزاد، در ٣٥ درجه، ١٥ دقیقه و ٢٦/٤٢ ثانیه عرض جغرافیایی و ٤٧ درجه، ١ دقیقه و ٢٩/٩ ثانیه طول جغرافیایی و در سال زراعی ١٣٨٩ انجام شد. میانگین بارندگی این منطقه، ٤٤٠ میلی‌متر گزارش است (اداره هواشناسی استان کردستان). مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در جدول ١ آمده است.

آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی شامل سه کرت اصلی و چهار کرت فرعی بود که در چهار تکرار اجرا شد. سه سطح آبیاری که فاکتور اصلی را تشکیل دادند عبارت بودند از:

١) آبیاری کامل (هنگامی که پتانسیل رطوبتی خاک به ٣- بار رسید).

٢) آبیاری هنگامی که پتانسیل رطوبتی خاک به ٨- بار رسید.

٣) آبیاری هنگامی که پتانسیل رطوبتی خاک به ١٢- بار رسید.

گوگرد در دو سطح صفر و ۳۰ کیلو گرم در هکتار و محلول‌پاشی منگنز در دو سطح صفر و یک کیلوگرم در هکتار به صورت فاکتوریل در کرتهای فرعی قرار گرفتند.

هر کرت شامل پنج خط پنج متری با فاصله خطوط ۶۰ سانتیمتر و فاصله روی خطوط کاشت ۲۰ سانتی‌متر بود. به منظور جلوگیری از تبادل آب و کود بین کرتهای تحت آبیاری و تنش خشکی، فاصله بین کرتهای اصلی سه متر، فاصله بین تکرارها و همچنین بین کرتهای فرعی نیز دو متر در نظر گرفته شد. گوگرد به صورت پودری (گوگرد خالص با خلوص ۹۸ درصد) یک ماه قبل از کشت، بعد از آبیاری نمودن خاک و رطوبت کافی برای اکسیداسیون آن در عمق ۲۰ سانتی‌متری خاک در زیر خطوط کاشت قرار گرفت و منگنز از منبع کلات منگنز به صورت محلول پاشی طی دو مرحله ۴ و ۸ برگی با نسبت پنج در هزار اعمال گردید.

به منظور اندازه گیری پروتئین از روش برادفورد (1976) استفاده شد. در این روش برای استخراج پروتئین برگ، ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگی در داخل هاون قرار داده شد و به آن نیتروژن مایع اضافه گردید و سپس سریعاً سابیده شدند. در ادامه پنج میلی لیتر بافر تریس HCL^- با pH= ۷/۴ به آن اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شدند. نمونه‌های استخراجی به منظور ارزیابی فعّالیت‌های آنزیمی در ویال‌های جداگانه در فریزر و دمای ۴۲- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در این تحقیق فعّالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز نمونه‌های پروتئینی استخراج شده با استفاده از H_2O_2 به عنوان سوبسترا و براساس فرآیند تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن به وسیله آنزیم‌های فوق، اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری میزان فتوسنتز در واحد سطح برگ ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}s^{-1}$)، میزان تعرق($mmol\ m^{-2}s^{-1}$) و غلظت CO_2 درون روزنه‌ای ($\mu mol\ mol^{-1}$) از دستگاه IRGA، مدل LCA_4 ساخت کمپانی ADC کشور انگلستان استفاده شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها در ساعت ۱۲-۱۰ صبح در شدت نور معادل ۱۴۰۰-۱۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه انجام شد. در هر تیمار، برگ قسمت میانی ساقه درمرحله گلدهی داخل محفظه شیشه‌ای دستگاه قرار داده شد و پس از یک دقیقه داده‌های دستگاه ثبت گردید (فیشر و همکاران، 1988).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آموزشی دانشگاه کردستان (ایستگاه دوشان)

بافت خاک	عمق (cm)	EC (dS/m)	pH (گل اشباع)	نیتروژن (درصد)	فسفر	پتاسیم	روی (ppm)	آهن	مس
لومی شنی	۳۰-۰	۰/۶۱	۷/۹	۰/۲۱	۵/۱۴	۸۲/۹۵	۵/۵۶	۱۲/۱۹	۲/۳

برای اندازه گیری نشت یونی به روش لوتس و همکاران (۱۹۹۶)، برگ‌ها به قطعات سه میلی مترمربع تقسیم گردید. تعداد ۱۰ قطعه بریده شده برگ، در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر

دو بار تقطیر شده، قرار داده شد. بعد از قرار گرفتن نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط خلاء، لوله‌های آزمایش در حمام آب گرم در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت سه ساعت قرار گرفتند و نشت یونی اولیه (EL_0) توسط هدایت سنج دیجیتالی مدل (WTW-CON 720، ساخت آلمان) قرائت گردید. لوله‌های آزمایش، مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند، سپس لوله‌های آزمایش در محیط بیرون قرار گرفتند تا دمای آنها به ۲۵ درجه سانتی گراد رسید. در نهایت، تراوش یونی نهایی (EL_1) توسط دستگاه هدایت سنج، قرائت گردید. با استفاده از رابطه‌ی۱ پایداری غشای سلولی محاسبه شد.

رابطه (۱) $EL(\%)=(EL0/EL1)\times100$

مقدار محتوای نسبی آب برگ (RWC) از نسبت اختلاف وزن تر با خشک بر اختلاف وزن تورژسانس با خشک (Sairam and Srivastava, 2002) محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری فعّالیت آنزیم کاتالاز از عصاره پروتئینی استخراج شده از روش چنس و ماهلی (۱۹۹۵) استفاده شد. به این منظور۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH=۷ و۳۰ میکرولیتر محلول نمونه در کووت کوارتز ریخته شد و به هنگام اندازه‌گیری فعّالیت آنزیم،۳۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن سه درصد به مخلوط واکنش اضافه شد. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه در ۲۵ درجه با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد، سپس تغییرات آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

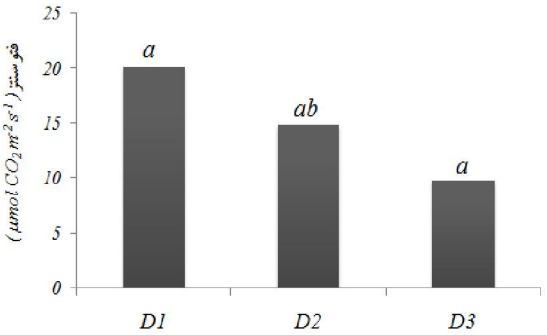
سنجش فعّالیت آنزیم پراکسیداز به روش مک آدام و همکاران (۱۹۹۲) صورت گرفت. در این روش یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش، شامل ۸۱۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولار با pH=۶/۶، ۲۰ میکرولیتر محلول نمونه و ۹۰ میکرولیتر گوئیکول یک درصد به عنوان الکترون دهنده مورد استفاده قرار گرفت. از مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی، به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده شد. مخلوط واکنش در کووت کوارتز ریخته شد و قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش،۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد به عنوان پذیرنده الکترون به آن اضافه شد و مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱۸۰ ثانیه در ۲۵ درجه سانتی گراد با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید، سپس تغییرات آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. جهت تجزیه آماری داده‌های آزمایش از نرم افزار SAS استفاده شده است.

نتایج و بحث

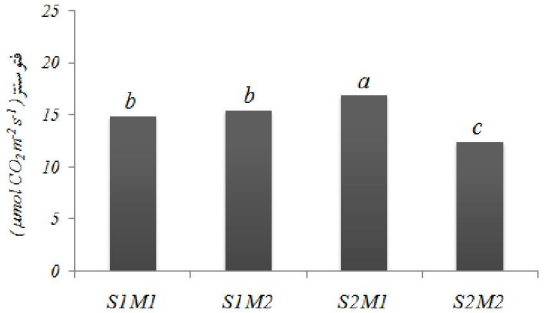
فتوسنتز

اثر سطوح آبیاری و اثر متقابل گوگرد در منگنز در سطح احتمال یک درصد، بر سرعت فتوسنتز معنی‌دار بود (جدول ۲). تحت شرایط تنش خشکی میزان کل فتوسنتز، به شدت کاهش پیدا کرد (شکل ۱). تنش خشکی می‌تواند از طریق اثرات روزنه ای و اثرات غیر روزنه ای شامل افزایش مقاومت مزوفیلی نسبت به انتقال دی اکسید کربن و افزایش نقطه جبرانی CO_2 بر جذب خالص CO_2 در برگ‌های گیاهان تحت تنش، به کاهش میزان فتوسنتز منجر شود

(Clark *et al*.,1991). علاوه بر این، در شرایط تنش رطوبتی، کاهش فعالیت آنزیم‌هایRUBP کربوکسیلاز و کاهش انتقال الکترون، فتو فسفوریلاسیون و سنتز کلروفیل و پروتئین‌ها مشاهده شده است (Blum, 1996). در بافت‌های سریع الرشد، سنتز پروتئین به شدت نسبت به تنش رطوبتی حساس می‌باشد (Blum, 1996 و Heyne, 1987). تنش خشکی موجب کاهش سرعت فتوسنتز و تعرق در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌شود. شواهد بیانگر آن است که تنش رطوبتی تاثیر مستقیم بر بیوشیمی کلروپلاست نظیر کاهش فعالیت فتوسیستم I و II، بازدارندگی سیکل کالوین و کاهش فسفوریلاسیون نوری دارد. کاهش فتوسنتز می‌تواند به عوامل روزنه ای و غیر روزنه‌ای نسبت داده شود (واجد و همکاران، ۲۰۰۷ و روحی و همکاران، ۱۳۸۷). مقایسه میانگین اثر متقابل گوگرد و منگنز (شکل ۲) نیز نشان داد که در شرایط مصرف گوگرد و عدم مصرف منگنز، بیشترین میزان فتوسنتز نسبت به تیمارهای دیگر را داشت. در حالی که مصرف منگنز اثر معنی‌داری بر میزان فتوسنتز نداشت. در خاک‌های آهکی، اسید اضافه شده به وسیله ترکیبات بازی خنثی شده و pH خاک پایین می‌آید. بدین‌ترتیب حلاّلیت عناصری مثل فسفر، آهن، منگنز، روی و مس افزایش می‌یابد. از سوی دیگر اسیدی کردن باعث افزایش فسفر قابل تبادل خاک می‌شود (کوچک زاده و همکاران،۱۳۸۰).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری(D1 آبیاری کامل، D2 آبیاری در 8- بار و D3 آبیاری در ۱۲- بار) بر میزان فتوسنتز آفتابگردان



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل کود گوگرد(S1 عدم مصرف گوگرد و S2 مصرف ۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار) و کود منگنز(M1 عدم مصرف منگنز و M2 مصرف یک کیلوگرم منگنز در هکتار)، بر میزان فتوسنتز آفتابگردان

تعرق

نتایج تجزیه واریانس(جدول ۲) و مقایسه میانگین نشان داد که اثر آبیاری (شکل ۳) و اثر متقابل سه جانبه آبیاری، گوگرد و منگنز (شکل ۴)، بر میزان تعرق به ترتیب در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار تعرق نسبت به تیمار آبیاری شاهد شده است. این موضوع به احتمال بسته شدن روزنه‌ها نسبت داده می‌شود که از اولین واکنش‌های گیاه در مواجهه با تنش خشکی محسوب می‌شود. با بسته شدن روزنه‌ها، قاعدتاً میزان تعرق از سطح برگ نیز محدود می‌شود و از این طریق، گیاه تحت تنش، در مصرف آب صرفه جویی می‌کند. رابطه بسته شدن روزنه‌ها با پتانسیل آب برگ بستگی به موقعیت و سن برگ دارد(کافی ،۱۳۸۱). نتایج آزمایشی در گیاه ارزن معمولی نشان داد که روزنه‌ها در پتانسیل آب مشخص و مساوی به طور یکسان بسته نشد که حکایت از واریانس ژنوتیپی برای این صفت دارد (ثقه الاسلامی و همکاران۱۳۸۴). مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری، گوگرد و منگنز نشان داد که تیمار آبیاری نرمال و عدم مصرف گوگرد و منگنز بیشترین و تیمار تنش متوسط خشکی همراه با مصرف منگنز و عدم مصرف گوگرد کمترین میزان تعرق را دارا بودند. در یک آزمایش بر روی گیاه گندم مشاهده شده که با اعمال تنش خشکی، میزان فتوسنتز و تعرق کاهش پیدا می‌کند و بعد از آبیاری مجدد، میزان فتوسنتز و تعرق به حالت قبل از اعمال تنش خشکی بر می‌گردد (Loboda, 2000). در یک آزمایش دیگر روی گندم، اعمال تنش خشکی باعث کاهش میزان فتوسنتز و تعرق در چهار ژنوتیپ گندم گردید (Subrahmanyam *et al*., 2006). عامل اصلی کاهش فتوسنتز در شرایط تنش، ناشی از این استراتژی است که گیاه برای اینکه بتواند از خشکی اجتناب نماید و از مقدار آب محدودی که در اختیار دارد نهایت استفاده را به عمل آورد، اقدام به بستن روزنه‌های خود می کند تا از هدر روی آب جلوگیری کند. با شروع دوره خشکی تا مدتی گیاه تعرق خود را در سطح حداکثر نگه می دارد ولی با تداوم دوره خشکی اقدام به بسته تر نمودن روزنه‌های خود و در نهایت بستن کامل آنها می‌نماید (مرادی و همکاران، ۱۳۸۴).

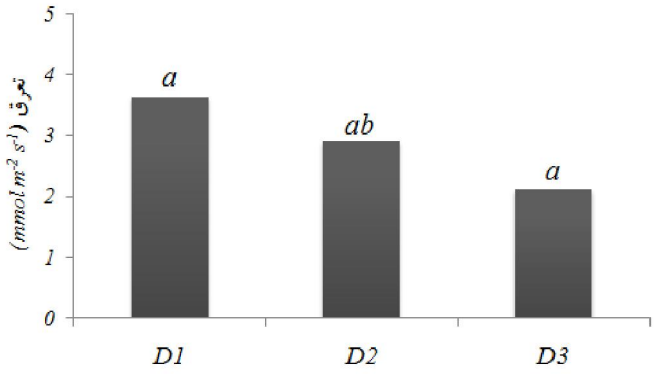
کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که مصرف گوگرد اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل b برگ‌ها دارد (جدول۲ و شکل ۵) و با مصرف گوگرد میزان کلروفیل b به میزان ۳۹ درصد نسبت به عدم مصرف کود افزایش پیدا کرد. محتوای کلروفیل مقیاسی برای کارآیی فتوسنتز است و می‌تواند به عنوان شاخصی برای ارزیابی سلامت گیاه و شناخت عکس العمل گیاه به تنش خشکی مورد استفاده قرار گیرد. تمام عوامل تنش‌زای گیاهی به طور مستقیم و یا غیر مستقیم دستگاه فتوسنتزی و محتوای کلروفیل را تحت تأثیر قرار می‌دهند(Kancheva *et al*., 2007).

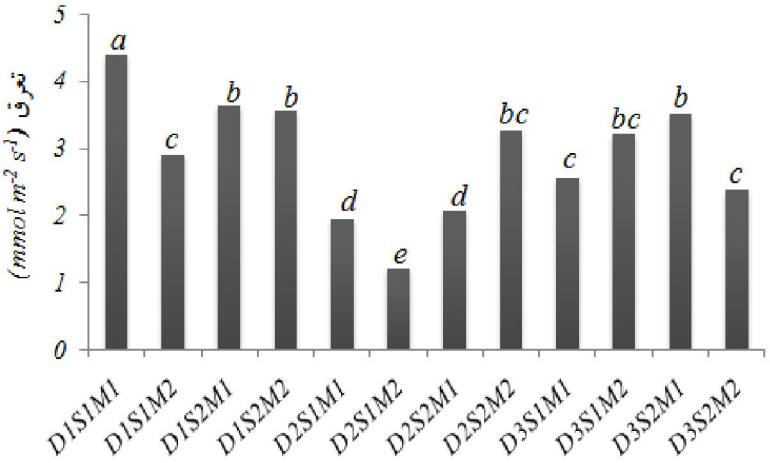
محتوی نسبی آب برگ (RWC)

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که محتوای نسبی آب برگ شدیدا تحت تأثیر تنش کمبود آب قرار گرفت و با تشدید تنش، کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۲ و شکل ۶) کاهش

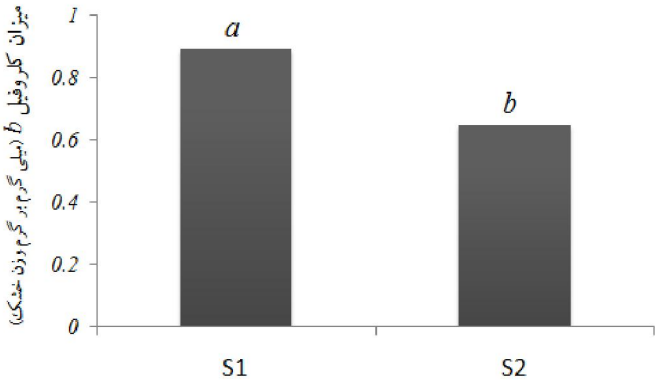
محتوای نسبی آب برگ نشان دهنده کاهش فشار آماس در سلول‌های گیاهی است و موجب کاهش رشد می‌گردد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری(D1 آبیاری کامل، D2 آبیاری در ۸- بار و D3 آبیاری در ۱۲- بار) بر میزان تعرق آفتابگردان

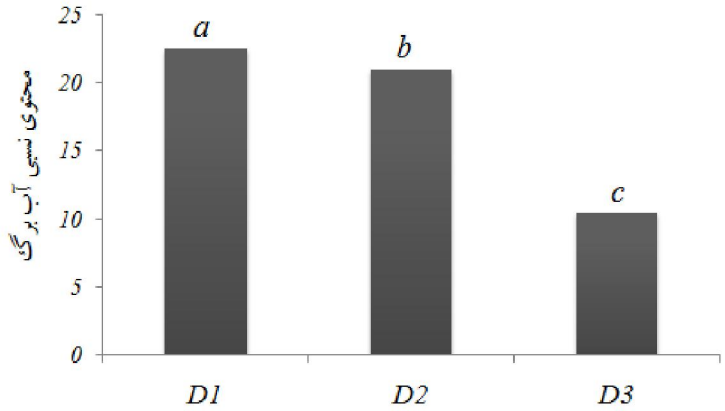


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری(D1 آبیاری کامل، D2 آبیاری در ۸- بار و D3 آبیاری در ۱۲- بار) * کود گوگرد (S1 عدم مصرف گوگرد و S2 مصرف ۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار) * کود منگنز(M1 عدم مصرف منگنز و M2 مصرف یک کیلوگرم منگنز در هکتار)، بر میزان تعرق آفتابگردان



شکل۵- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف گوگرد(S1 عدم مصرف گوگرد و S2 مصرف ۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار) بر میزان کلروفیل b در آفتابگردان

بک و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند تنش‌های محیطی مختلف سبب پاسخ‌های سلولی و مولکولی گیاه می‌شوند. این تنش‌ها سبب به راه افتادن زنجیره‌ای از سیگنال‌های تنشی می‌شوند.تنش خشکی سبب کاهش آب برگ،آب واکوئل و اندازه سلول می‌شود.علت کاهش آب برگ باز شدن روزنه‌ها و خروج آب بصورت تعرق از گیاه است واز آنجائی که رطوبت در دسترس گیاه و ریشه‌ها کم است، رشد ریشه‌های گیاه افزایش می‌یابد تاجذب آب افزایش یابد ولی چون رطوبت خاک کم است این امر نمی‌تواندآب خارج شده از گیاه را تأمین نماید و در نتیجه آب برگ کاهش می‌یابد. کاهش آب برگ تحت شرایط تنش خشکی وافزایش آن بعداز آبیاری و رفع تنش خشکی در گیاهان مختلف، توسط محققینی از جمله زو و همکاران (۲۰۰۷) در برنج، چوپرا و سلوت (۲۰۰۸) و بارتولی و همکاران(۱۹۹۹) در ارقام مقاوم و حساس گندم، آرانجلو و همکاران(۲۰۰۷) در یونجه ، فلکسیز و مدرانو(۲۰۰۲) در گیاهانC3 پانکویک و همکاران (۱۹۹۹) در آفتابگردان تیمپا و همکاران (۱۹۸۶) در پنبه گزارش شده است.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری(D1 آبیاری کامل، D2 آبیاری در 8- بار و D3 آبیاری در ۱۲- بار)، بر محتوی نسبی آب برگ آفتابگردان

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

کاتالاز

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده سطوح آبیاری،اثر توأم کودهای گوگرد و منگنز و اثرتوأم سطوح آبیاری و کودهای گوگرد و منگنز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول۲). مقایسه میانگین اثر توأم کودهای گوگرد و منگنز، نشان داد که مصرف گوگرد باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است در حالی که مصرف گوگرد تأثیری روی فعالیت آن ندارد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر توأم سطوح آبیاری، گوگرد و منگنز نشان داد که مصرف کود گوگرد باعث افزایش آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی می‌شود. لیما و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده کردند که در شرایط تنش خشکی فعالیت کاتالاز در رقم مقاوم ۱۱۰ درصد و در رقم حساس ۵۸ درصد افزایش یافت.

جدول۲- تجزیه واریانس برخی صفات فیزیولوژیک آفتابگردان در شرایط کاربرد کود گوگرد و منگنز، تحت سطوح آبیاری

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		فتوسنتز	تعرق	کلروفیل a	کلروفیل b	محتوی نسبی آب برگ	پایداری غشای سلولی	کاتالاز	پراکسیداز
تکرار	۳	۱۶/۹۸	۱/۸۸۱	۳/۵۳۵	۰/۱۴۰	۹۵۶/۳۵	۰/۸۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۱۱۵۲
آبیاری	۲	۱۴۲۸/۵۰**	۸/۹۱۲*	۰/۴۴۰ ns	۰/۵۳۸ ns	۱۹۳۷/۶۸**	۲/۳۴۷**	۰/۰۱۰۴**	۲/۴۹۷۰**
خطای اول	۶	۱۱۷/۵۴	۱/۱۰۳	۱/۹۱۳	۰/۲۴۳	۶۹/۰۲	۰/۰۹۹	۰/۰۰۰۶	۰/۰۸۲۷
گوگرد	۱	۳/۶۸ ns	۱/۶۱۹ns	۲/۶۸۵ ns	۰/۷۲۰*	۷/۵۲	۰/۰۱۴	۰/۰۰۲۴	۰/۰۲۲۰۶ ns
منگنز	۱	۱۰/۵۱ ns	۰/۸۲۲ns	۶/۲۲۸ ns	۰/۳۵۶ ns	۱/۰۲ns	۰/۲۶۳ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۰۰۵ ns
آبیاری × گوگرد	۲	۷/۸۰ ns	۱/۵۲۲ns	۱/۹۲۳ ns	۰/۱۲۴ ns	۱/۸۹ns	۰/۱۷۹ns	۰/۰۰۵۶ ns	۰/۰۰۵۷*
آبیاری × منگنز	۲	۸/۹۴ ns	۱/۵۱۹ns	۲/۶۹۸ ns	۰/۱۹۱ ns	۰/۶۴ns	۰/۰۷۱ns	۰/۰۰۵۴ ns	۰/۸۷۵۲*
گوگرد× منگنز	۱	۷۵/۸۱**	۰/۸۲۹ns	۰/۶۸۷ ns	۰/۲۸۲ ns	۷۵/۵۲	۰/۳۹۶ ns	۰/۰۵۱۱**	۰/۰۳۰۴
آبیاری × گوگرد × منگنز	۲	۷/۶۲ ns	۴/۱۵۶**	۰/۲۷۴ ns	۰/۱۴۹ ns	۴/۵۲ns	۰/۲۶۱ ns	۰/۰۱۶۳**	۰/۲۶۷۹ ns
خطای دوم	۲۷	۴/۰۸	۰/۶۸۰	۱/۷۱۱	۰/۱۱۴	۶/۸۷	۰/۲۳۹	۰/۰۰۲۴	۰/۱۹۵۷
ضریب تغییرات (C.V٪)		۲۷/۴۲	۲۸/۵۵	۹/۰۵	۴۳/۹۳	۱۲/۳۰	۲۲/۲۱	۲۱/۴۲	۲۷/۸۴

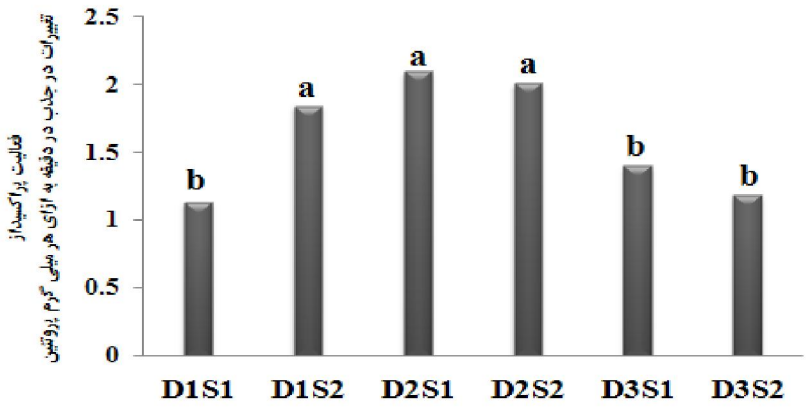
*اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، **اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و ns عدم معنی داری

آنها اظهارداشتند که فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در رقم مقاوم باعث حذف ترکیبات اکسیداسیونی و سطوح کمتر نشت یونی از غشاء سلولی تحت تنش شده است.کاتالاز در تمام سلول‌های گیاهی یافت می‌شود و سلول‌های گیاهی را از سمیت پراکسید هیدروژن که در نتیجه فعالیت متابولیکی سلول تولید می‌شوند، حفظ می‌کند. یک مولکول از کاتالاز قادر است در یک ثانیه یک میلیون از H_2O_2 را به آب و اکسیژن تبدیل کند. pH مناسب برای فعالیت آن ۷ و دمای مناسب برای آن در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. وجود این آنزیم برای حذف H_2O_2 که در نتیجه تنفس نوری به وجود آمده است، لازم و ضروری است (Luna *et al.*,2005).

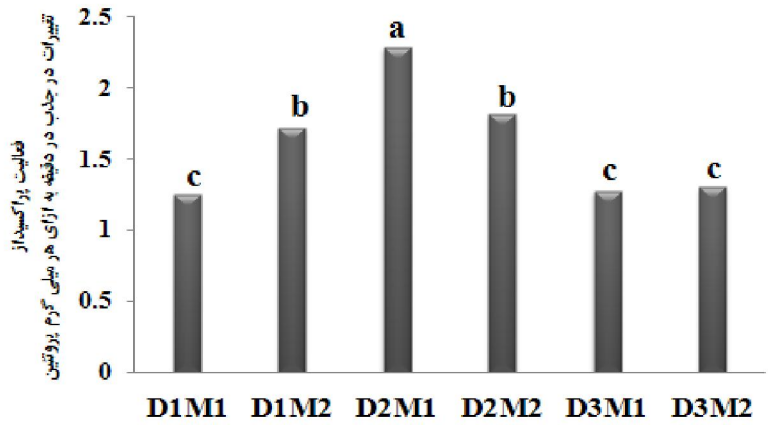
پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده سطوح آبیاری در سطح احتمال یک درصد و اثر توأم سطوح آبیاری و گوگرد و اثر توأم آبیاری و منگنز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های اثر توأم آبیاری و گوگرد (شکل ۷) نشان داد که مصرف گوگرد در شرایط آبیاری نرمال باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود، ولی در شرایط تنش ملایم و تنش شدید خشکی، تا حدودی باعث کاهش آن شده است.

در مقایسه میانگین اثر آبیاری و منگنز (شکل ۸) نیز نتایج مشابهی مشاهده شد. مطالعات نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان به جز کاتالاز، در پاسخ به شرایط تنش مشخص می‌کند که آنها نقش مهمی در محافظت از آسیب‌های سمی ROS دارند.تنش خشکی شدیدتر باعث کاهش فعالیت همه آنتی اکسیدان‌ها می‌شود (Huang *et al.*,2013 و Sharma and Dubey., 2005). لی پینگ و همکاران(۲۰۰۶) در مطالعه تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را گزارش کردند.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر توأم سطوح آبیاری (D1 آبیاری کامل، D2 آبیاری در ۷- بار و D3 آبیاری در ۱۲- بار) و کود گوگرد (S1 عدم مصرف گوگرد و S2 مصرف ۳۰ کیلوگرم گوگرد) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز آفتابگردان.



شکل۸- مقایسه میانگین اثر توأم تنش خشکی و کود منگنز (M1 عدم مصرف منگنز و M2 مصرف یک کیلوگرم منگنز)، بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز آفتابگردان.

منابع

بابائیان مهدی، حیدری مصطفی، قنبری احمد. ۱۳۸۴. اثر محلول پاشی عناصر ریز مغذی بر تنظیم کنندههای اسمزی، عملکرد و اجزای عملکرد دانه آفتابگردان رقم آلستر درسه مرحله تنش خشکی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴۶: ۱۱۹-۱۱۲

ثقه الاسلامی محمد جواد ، کافی محمد، مجیدی هروان اسلام ، نورمحمدی قربان، درویش فرخ ، قاضی‌زاده علی. ۱۳۸۴. اثر تنش خشکی در مراحل مختلف رشد بر میزان قندهای محلول،درجه لوله شدن و میزان آب نسبی برگ برخی ژنوتیپ‌های ارزن معمولی،پژوهش‌های زراعی ایران، ۳: ۲۳۱-۲۱۹

جباری فرهاد، احمدی علی، پوستینی کاظم، علیزاده هوشنگ. ۱۳۸۵. بررسی ارتباط فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت با پایداری غشائ سلولی وکلروفیل در ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی. علوم کشاورزی ایران، ۲: ۳۰۷-۳۱۶

کافی محمد، دامغانی علی.۱۳۸۱. مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۶۰ صفحه.

کوچک زاده یاسمین ، ملکوتی محمد جعفر، خاوازی کاظم.۱۳۸۰. بررسی نقش گوگرد، تیوباسلیوس، حل کننده‌های فسفات و مواد آلی در تامین فسفر مورد نیاز ذرت از خاک. مجله خاک و آب . ۱۲: ۲۵۰-۲۴۳

مرادی علی، احمدی علی، جودی محمد. ۱۳۸۴. عکس العمل فتوسنتز و هدایت روزنه ای به تنش شدید و خفیف خشکی در مراحل مختلف رشدی. اولین همایش ملی حبوبات. پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.

Aranjuelo I, Irigoyen JJ, Dıaz MS. 2007. Effect of elevated temperature and water availability on co2 exchange and nitrogen fixation of nodulated alfalfa plants. Environmental and Experimental Botany 59: 99–108.

Bartoli CG, Simontacchi M, Tambussi E, Beltrano J, Montaldi E, Puntarulo S. 1999. Drought and watering dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in (*Triticum aestivum* L.) leaves. Experimental Botany 50 : 357-383.

Baybordi A. 2004. Effect of Fe, Mn, Zn and Cu on the quality and quantity of wheat under salinity stress. Journal of Water and Soil Science. 17: 140-150. (in Persian)

Beck EH, Fettig S, Knake C, Hartig K, Bhattarai T. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. Bioscience 32 :501–510.

Blum A. 1996. crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Journal of Plant Growth Regulation.20:135-148.

Blum B, Ebercon A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Science 21 : 43-47

Cakmak I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist, 146: 185–205.

Chance B, Maehly AC. 1995. Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick S. P., and N. D. Kaplan. (eds) Methods in Enzymology. Academic Press. New York, 2: 764-791.

Chopra RK, Selote DS. 2008 .Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany 60:276 –283.

Clark JM, Richer LRA , Condon AO. 1991 . Effect of drought stress on evidual transpiration and its relationship with use of whnt . Can Plant Science 71:659-702.

Delaney AJ, Hu C AA , Kishor KPB, Verma DPS. 1993. Cloning ornithine-aminotransferase

cDNA from V*igna anconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coil* and regulation of proline biosynthesis. Biolo Chem 268: 18673-18678.

Fischer RA, Rees D, Sayre KD, Lu ZM, Candon AG, Saavedra AL. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. Crop Science 38: 1467-1475.

Flexas J, Medrano H. 2002. Drought inhabitation of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non stomatal limitation revisited. Annals if Botany 89: 183-189.

Guo Z, Ou W, Lu S, Zhong Q. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry 44: 828-836.

Haq K, Ali M. 2003. Biologically active sulphur compounds of plant origin. In Sulphur in Plants; AbroY.P, and A. Ahmad, (Eds). Kluwer Academic Publishers: Dordrecht., pp. 375–386.

Huang C, Zhao S, Wang L, Anjum AS, Chen M, Zhou H, Zou C. 2013. Alteration in chlorophyll fluorescence, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in hybrid ramie (Boehmeria nivea L.) under drought stress. Australian Journal of Crop Science, 7(5):594-599.

Heyne EG. 1987. Wheat and wheat improvement. ASA., CSSA. Pubs. Madison. Wisconsin. USA. 387 pp.

Kancheva RH, Borisova DS, Lliev IT. 2007. Chlorophyll fluorescence as a plant stress indicator. Bulgaria Academic of Sciences 301-306.

Lamikanra O. 2002. Fresh-cut fruits and vegetables.Science Technology and Market pp 141-145.

Lima ALS, DaMatta FM, Pinheiro HA, Totola MR, Loureiro ME. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of Coffea canephora under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany 47:239-247.

Li-Ping B, Fang-Gong S, Ti-Da G, Zhao-Hui S, Yin-Yan L, Guang-Sheng Z. 2006. Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. Pedosphere 16: 326-332.

Loboda T. 2000. Gas exchange of spring barley and wheat grown under mild water shortage. Photosynthetica 38: 429-432.

Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernard S, Foyer CH. 2005 . Drought controls on H_2O_2 accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. Experimental Botany 56:417–423.

Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Journal of Ann. Botany, 78:389-398.

Mac-Adam JW , Nelson CJ ,Sharp RE. 1992 .Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. Plant Physiol 99:872-878.

Naren AP, Virupaksha TK. 1990. Effect of sulphur deficiency on the synthesis of setarin, a methionine rice protein of Italian millet. Cereal Chemistry., 67: 136-138.

Orman S, Kaplan M. 2007. Effects of elemental sulphur and organic manure on sulphur, zinc, and total chlorophyll contents of tomato in a calcareous sandy loam soil. Journal of Soil Science Society of America, 55:85-90.

Ozdemir F, Bor M, Demiral T, Türkan I. 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. Plant Growth Regul 42: 203–211.

Pankovic D, Sakac Z, Keversan S, Plesnicar M. 1999. Acclimation to long term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids: photosynthesis, electron transport and carbon metabolism. Experimental Botany 50: 127–138.

Reddappa Reddy M. 1981, Effect of calcium, sulphur and boron onthe yield andcomposition of sunflower *(Helianthus annuus* L.*)*. MSc. (Agri.) Thesis, University of Agricultural Science, Banglore, India, pp. 144.

Sairam RK, Srivastava GC. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science 162: 897-907.

Schnug E, Haneklaus S. 1998. The sulphur concentration as a standard for the total glucosinolate content of rapeseed and meal and its determiation by x-ray fluorescence spectroscopy (x-rf method). Journal Food Agricultur., 45: 243–254.

Selote D, Chopra RK. 2006. Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinated antioxidant defense at cellular and sub cellular level in leaves of wheat seedlings. Physiologia Plantarum 127: 494–506.

Sharma P, Dubey RS. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Reg. 46: 209-221.

Skwaryło-Bednarz B, Krzepiłko A. 2013. Effect of varied NPK fertilization on catalase activity of amaranth (*Amaranthus cruentus* L.). Ecological Chemistry and Engineering S, 20(2): 321–329.

Smirnoff N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist 125: 27-58.

Subrahmanyam D, Subash N, Haris A, Sikka AK. 2006. Influence of water stress on leaf photosynthetic characteristics in wheat cultivars differing in their susceptibility to drought. Photosynthetica 44: 125-129.

Tabatabai MA. 1986. Sulfur in agriculture. American Society of Agronomy: Madison.,Wisconsin. P:35.

Timpa JD, Burke JJ, Quisenberry JE, Wendt CW. 1986. Effects of water stress on the organic acid and carbohydrate compositions of Cotton Plants. Plant Physiology 82: 724-728.

Wajid A, Hussain K, Maqsood M, Ahmad A, Hussain A . 2007. Influence of drought on water use efficiency in wheat in semi-arid regions of Panjab. Soil and Environments. 26: 64-68.

Wilson DO, Boswell FC, Ohki K, Parker MB, Shuman LM, Jellum MD. 1982 . Change in soybean seed oil and protein as influenced by manganese nutrition. Crop Science 22: 948-952

Zhou Y, Lam HM, Zhang J. 2007.Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice. Experimental Botany, 58: 1207–1217.

The effects of drought stress, sulfur and manganese applications on some physiological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.)

G.R. Heidari[1*], B. Hasanzadeh[1], A. Siosemardeh[1], Y. Sohrabi[1], Y. Emam[2], M. Majidi[2]

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
2-Department of Agronomy and Plant Breeding, Shiraz University, Shiraz, Iran

Abstract

In order to evaluate the effect of sulfur and manganese applications on physiological characteristics of sunflower under different irrigation levels, this study was conducted in Kurdistan University in 2011. A split-plot factorial experiment was carried out based on randomized complete block design with 4 replications. Main plots contain three levels of irrigation: control (-3 bar), 2- mild stress (-8 bar), and severe stress (-12 bar), and subplots had two levels of sulfur application (no application and 30 kg sulfur/ha) and two levels of manganese application (control and 1 kg manganese/ha). Results indicated that drought stress reduced gas exchange and photosynthesis. In comparison with control, sulfur and manganese application increased photosynthesis and increased chlorophyll b content. Drought stress caused reduction in the relative water content and damaging cell membrane. Under drought stress, the activity of catalase was reduced, whereas the peroxidase activity was increased. Manganese application increased catalase activity. It can be concluded that fertilizer application could alleviate the adverse effects of drought stress to some extent.

Key words: Sunflower, Drought stress, Sulfur and manganese applications

** Corresponding author: g.heidari@uok.ac.ir* *Received: 2015/01/31 Accepted: 2015/07/01*