

ZEOLITE AND SELENIUM APPLICATION AND THEIR EFFECTS ON PRODUCTION AND PHYSIOLOGICAL ATTRIBUTES OF CANOLA CULTIVARS UNDER WATER STRESS

APLICACIÓN DE ZEOLITA Y SELENIO Y SUS EFECTOS EN LA PRODUCCIÓN Y ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS DE LOS CULTIVARES DE CANOLA BAJO ESTRÉS HÍDRICO

Hossein Zahedi¹, A. Hossein Shirani-Rad², H. Reza Tohidi-Moghadam³

¹Department of Agronomy and Plant Breeding, Eslamshahr Branch, Islamic Azad University, Eslamshahr, Iran. (hzahedi2006@gmail.com). ²Department of Agronomy, Oil Seed Crops Institute, Karaj, Iran. ³Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

ABSTRACT

To study the effects of zeolite and selenium (Se) application on production and physiological attributes of three canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress, an experiment was conducted in two growing seasons (2006 and 2007), at Karaj, Iran. The experimental design was randomized complete blocks in factorial split plot with three replications, and three factors: 1) irrigation: complete and restricted at stem elongation stage; 2) zeolite: 0 and 10 t ha⁻¹; 3) Se (as sodium selenate): 0, 15 and 30 g L⁻¹. These treatments were randomized into Zarfam, Okapi and Sarigol canola cultivars. According to the results, Zarfam cultivar showed the lowest electrolyte leakage and the highest biological yield due to zeolite application and 30 g L⁻¹ Se. The highest chlorophyll content and seed yield was related to Okapi cultivars under the same treatments, while Sarigol was next. Zeolite and Se applications increased seed yield, but under water stress they did not change this variable. Furthermore, the biological yield increased due to Se and zeolite application, especially under water stress. Thus, application of 15 g L⁻¹ Se and 10 t ha⁻¹ zeolite may increase canola seed yield under water stress.

Key words: biological yield, *Brassica napus* L., water stress, cellular electrolyte leakage, selenium, zeolite.

INTRODUCTION

In the arid and semi-arid environment of Iran, rainfall and soil moisture are the most important factors affecting crop production. Water stress causes some undesirable biochemical

* Author for correspondence ♦ Autor responsable.
Received: August, 2011. Approved: May, 2012.
Published as ARTICLE in *Agrociencia* 46: 489-497. 2012.

RESUMEN

Para estudiar los efectos de la aplicación de zeolita y selenio (Se) en la producción y atributos fisiológicos de tres cultivares de canola (*Brassica napus* L.) bajo estrés hídrico, se realizó un experimento en dos épocas de cultivo (2006 y 2007) en Karaj, Irán. El diseño experimental fue de bloques completamente al azar en parcelas divididas en un arreglo factorial, con tres repeticiones, y tres factores: 1) riego: completo y restringido en la etapa de elongación de los tallos, 2) zeolita: 0 y 10 t ha⁻¹, 3) Se (como sodio selenita): 0, 15 y 30 g L⁻¹. Estos tratamientos fueron distribuidos al azar en los cultivares de canola Zarfam, Okapi y Sarigol. Según los resultados, el cultivar Zarfam mostró la menor pérdida de electrolito y el mayor rendimiento biológico debido a la aplicación de zeolita y 30 g Se L⁻¹. El contenido de clorofila y rendimiento de semilla más alto se relacionó con el cultivar Okapi con los mismos tratamientos, seguido de Sarigol. Las aplicaciones de zeolita y Se aumentaron la producción de semillas, pero bajo estrés hídrico no cambiaron esta variable. Además el rendimiento biológico aumentó debido a la aplicación de Se y zeolita, especialmente bajo estrés hídrico. Así, la aplicación de 15 g L⁻¹ Se y 10 t ha⁻¹ de zeolita pueden aumentar el rendimiento de semilla de canola bajo estrés hídrico.

Palabras clave: rendimiento biológico, *Brassica napus* L., estrés hídrico, pérdida de electrolitos celulares, selenio, zeolita.

INTRODUCCIÓN

En las zonas áridas y semiáridas de Irán, las precipitaciones y la humedad del suelo son los factores más importantes que afectan la producción de cultivos. El estrés hídrico causa algunos cambios bioquímicos y fisiológicos no deseados en

and physiological changes in plants (Pattangal and Madore, 1999), significantly decreases biological yield and seed yield especially at flowering stages (Deepak and Wattal, 1995), and decreases yield in canola (*Brassica napus* L.) (Triboi-Blondel and Renard, 1999). The most important effect of environmental stress is cell membrane degradation which decreases membrane selective permeability and increases cellular electrolyte leakage. The amount of electrolyte leakage is measured as an index for determining stress intensity. Chlorophyll content has close and negative correlation with water stress, and chlorophyll measurement can be a useful index to explain stress intensity (Shen *et al.*, 2008).

Membrane lipid peroxidation is due to the reactive oxygen species caused by water stress. Lipid peroxidation decreases cell membrane elective permeability (Basaga, 1989). Chloroplasts, mitochondria, and peroxisomes are intracellular generators of activated oxygen species, such as H_2O_2 , superoxide and hydroxyl radicals in the plant cells (Salin, 1991). According to Yu *et al.* (1998) and Shen *et al.* (2008), research is focusing on the effects of calcium and potassium on the cell membrane stability and the increase in resistance to environmental stress. There are evidences based on the beneficial effects of selenium (Se) on plants, which is an important trace element for animals and plants. Selenium plays an important role in activity of enzymes such as glutathione peroxidase (Gladyshev *et al.*, 1998), improves plant growth and increases antioxidant capacity (Seppanen *et al.*, 2003).

Zeolites have a porous structure that can accommodate Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , and others cations. These positive ions are rather loosely held and can readily be exchanged for others in a solution. Zeolite application in the soil increases water retention capacity and acts as a chemical sieve allowing some ions to pass through, while blocking others (Mumpton and Fisherman, 1977). Zeolite, because of its high cation exchange capacity (CEC), decreases nutrient leaching, especially nitrate; thus, zeolite application in clay soils subjected to water stress can improve final yield via increase in soil water holding (Zahedi *et al.*, 2009).

Selective absorption and controlled release of nutrients by zeolite helps plant growth under poor conditions (Ok *et al.*, 2002). High CEC, selective

las plantas (Pattangal y Madore, 1999), disminuye significativamente el rendimiento biológico y el de semilla, especialmente en las etapas de floración (Deepak y Wattal, 1995), y reduce el rendimiento en la canola (*Brassica napus* L.) (Triboi-Blondel y Renard, 1999). El efecto más importante del estrés ambiental es la degradación de la membrana celular que disminuye la permeabilidad de membrana selectiva y aumenta la pérdida de electrolitos celulares. La cantidad de pérdida de electrolitos se mide como un índice para determinar la intensidad del estrés. El contenido de clorofila tiene una correlación estrecha y negativa con el estrés hídrico, y la medición de la clorofila puede ser un índice útil para explicar la intensidad del estrés (Shen *et al.*, 2008).

La peroxidación de los lípidos de la membrana se debe a las especies reactivas al oxígeno causadas por el estrés hídrico. La peroxidación lipídica reduce la permeabilidad selectiva de la membrana celular (Basaga, 1989). Los cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas son generadores intracelulares de especies reactivas de oxígeno, como H_2O_2 , superóxido y radicales hidroxilos en las células vegetales (Salin, 1991). Según Yu *et al.* (1998) y Shen *et al.* (2008), la investigación se centra en los efectos del calcio y el potasio en la estabilidad de la membrana celular y el aumento de la resistencia al estrés ambiental. Hay evidencias basadas en los efectos beneficiosos del selenio (Se) en las plantas, lo cual es un indicador importante para animales y plantas. El Se tiene una función importante en la actividad de enzimas como la glutatión peroxidasa (Gladyshev *et al.*, 1998), mejora el crecimiento de las plantas y aumenta la capacidad antioxidante (Seppänen *et al.*, 2003).

Las zeolitas tienen una estructura porosa que puede albergar Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} y otros cationes. Estos iones positivos están libres y pueden ser intercambiados fácilmente por otros en una solución. La aplicación de la zeolita en el suelo aumenta la capacidad de retención de agua y actúa como un tamiz químico permitiendo pasar algunos iones y bloqueando otros (Mumpton y Fisherman, 1977). La zeolita, debido a su alta capacidad de intercambio catiónico (CIC), disminuye la lixiviación de nutrientes, especialmente nitratos; entonces, la aplicación de zeolita en suelos arcillosos sometidos a estrés hídrico puede mejorar el rendimiento final al aumentar la retención de humedad del suelo (Zahedi *et al.*, 2009).

absorption and structure stability, make zeolite a suitable substance as soil amendment to overcome water stress and fertilization optimize (Mumpton and Fisherman, 1977). Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of zeolite soil and Se application on growth, seed production, and some physiological canola attributes under conditions of water stress.

MATERIALS AND METHODS

This study was conducted at an experimental field at Karaj, Iran (35° 59' N, 50° 75' E, and altitude of 1313 m) on three canola cultivars, Zarfam, Okapi, and Sarigol in 2006 and 2007 growing seasons. The yearly average precipitation (30 years long-term period) was 244 mm, mostly concentrated during the autumn and winter months (November to February). Before beginning the experiment, soil samples were taken to determine the physical and chemical properties.

A composite soil (clay loam) sample collected from 0-30 and 30-60 cm depth was air dried, crushed, and tested for physical and chemical properties (Table 1). Chemical fertilizers and zeolite were distributed on the soil and incorporated at a depth of 30 cm. The plots were 5 m long and consisted of six rows, 0.3 m apart. Between the blocks and main plots, an alley between 6 and 2.4 m was kept to eliminate all influence of lateral water movement. The canola seeds were disinfected and sown in early October (2006 and 2007). The distance between the plant rows was 30 cm and the plant density was 1 000 000 plants ha⁻¹ at sowing time. Irrigation was carried out uniformly in all plots until flowering stage. Non-stressed plants were irrigated after reaching 80-mm evaporation from Class A pan evaporation. Weeds were effectively controlled by hand.

Cellular electrolyte leakage assay

For this assay, five fully mature and expanded leaves of each treatment were clipped. The leaf disks were cut and immersed in 20 mL of manitole in test tube (-2 MPa osmotic potential).

La absorción selectiva y la liberación controlada de nutrientes por la zeolita ayuda al crecimiento de las plantas en condiciones poco favorables (Ok *et al.*, 2002). Un CIC alto, la absorción selectiva y la estabilidad de la estructura hacen que la zeolita sea una sustancia adecuada como enmienda del suelo para superar el estrés hídrico y optimizar la fertilización (Mumpton y Fisherman, 1977). Así, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de zeolita y Se en el crecimiento, producción de semillas, y algunos atributos fisiológicos de la canola bajo condiciones de estrés hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en un campo experimental de Karaj, Irán (35 ° 59 'N, 50 ° 75' E, y 1313 m de altitud) en tres cultivares de canola, Zarfam, Okapi, y Sarigol en 2006 y 2007. La precipitación media anual (período de largo plazo de 30 años) fue 244 mm, concentrada principalmente en los meses de otoño e invierno (de noviembre a febrero). Antes de iniciar el experimento se tomaron muestras de suelo para determinar las propiedades físicas y químicas.

Una muestra de suelo compuesto (franco arcilloso) fue recolectada a 0-30 y 30-60 cm de profundidad, secada al aire, molida y se analizó sus propiedades físicas y químicas (Cuadro 1). Los fertilizantes químicos y la zeolita se distribuyeron en el suelo y se incorporaron a una profundidad de 30 cm. Las parcelas tenían 5 m de largo y consistían de seis hileras, a 0.3 m de distancia entre ellas. Entre los bloques y las parcelas principales se mantuvo un callejón entre 6 y 2.4 m para eliminar toda influencia de un movimiento lateral del agua. Las semillas de canola fueron desinfectadas y sembradas al inicio de octubre (2006 y 2007). La distancia entre las hileras de plantas fue 30 cm y la densidad de siembra fue 1 000 000 plantas ha⁻¹ a la siembra. El riego fue uniforme en todas las parcelas hasta la etapa de floración. Las plantas sin estrés fueron regadas después de llegar a 80 mm de la Clase A de evaporación de bandeja. Las malezas se controlaron manualmente con eficacia.

Table 1. Physical and chemical properties of soil collected from the site study.
Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas del suelo recolectado en el sitio de estudio.

Year	Depth (cm)	EC (dS m ⁻¹)	pH	Organic carbon (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	Texture
2006	0-30	1.36	7.8	0.47	0.05	4.9	171	Clay
	30-60	1.76	7.7	0.35	0.04	2	132	loam
2007	0-30	1.42	7.8	0.51	0.06	3.1	205	Clay
	30-60	1.44	7.9	0.40	0.06	2	150	loam

After 24 h of darkness the electrical conductivity of the samples was measured.

Chlorophyll content assay

Chlorophyll *a* (Chl *a*) and chlorophyll *b* (Chl *b*) were extracted and estimated according to the method of Lichtenthaler (1987). About 100 mg of each leaf was cut into tiny segments and kept in 10 mL of chilled 80 % acetone in a capped glass tube. After 48 h of extraction in dark at 4 °C, the leaf segments were further extracted for residual pigments. The contents of Chl *a* and Chl *b* were measured at 666 and 653 nm. Total chlorophyll concentration (Chl *a+b*) was Chl *a* + Chl *b*.

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was randomized complete blocks with a factorial split plot arrangement of treatments in three replications. The treatments were: 1) irrigation (I): complete (I₁) and restricted (I₂) at the stem elongation stage; 2) zeolite (Z): 0 (Z1), and 10 t ha⁻¹ (Z2); 3) Se, 0, 15, and 30 g L⁻¹ sodium selenate (S1, S2, and S3) at the initial silique stage. These treatments were applied on Zarfam, Okapi and Sarigol cultivars. Analyses of variance were carried out using the GLM procedure (SAS Institute, 2002), assuming that the residuals were random, homogenous and with a normal distribution about a mean of zero. Treatment means were compared using LSMEANS ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Combined analysis of variance for 2006 and 2007 showed that the effect of year was not significant, except for seed and biological yields (Table 2). In addition, in most of the cases, interaction of years (Y) with treatments was not significant. It is worth mentioning that quadripartite interaction had significant effect on cellular electrolyte leakage and chlorophyll content (Table 2).

Analysis of treatments means (Table 3) showed that the highest electrolyte leakage was observed at Zarfam cultivar, and the highest chlorophyll content at Okapi cultivar. Seed yield was similar among the canola cultivars, while the highest biological yield was found at Zarfam cultivar. Under conditions of water stress, the highest and lowest electrolyte leakage occurred in Zarfam and Okapi cultivars, because of their differences in sensitivity to water stress, whereas the lowest chlorophyll content was related to Zarfam cultivar (Table 3).

Prueba de liberación de electrolitos celulares

Para esta prueba se recortaron cinco hojas completamente maduras y extendidas de cada tratamiento. Los discos de hojas se cortaron y sumergieron en 20 mL de manitole en un tubo de ensayo (potencial osmótico -2 MPa). Después de 24 h de oscuridad se midió la conductividad eléctrica de las muestras.

Evaluación del contenido de clorofila

La clorofila *a* (Chl *a*) y la clorofila *b* (Chl *b*) (Chl *a+b*) se extrajeron y midieron con el método de Lichtenthaler (1987). Alrededor de 100 mg de cada hoja se cortó en pequeños segmentos y se mantuvieron en 10 mL de acetona fría al 80 %, en un tubo de vidrio con tapa. Después de 48 h de extracción en la oscuridad a 4 °C, en los segmentos de hojas se extrajeron pigmentos residuales. Los contenidos de Chl *a* y Chl *b* fueron medidos a 666 y 653 nm. La concentración de clorofila total (Chl *a+b*) fue Chl *a* + Chl *b*.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue bloques completos al azar en parcelas divididas con un arreglo factorial de tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) riego (I): riego (I₁) y riego (I₂) en la etapa de elongación del tallo; 2) zeolita (Z): 0 (Z1), y 10 t ha⁻¹ (Z2); 3) Se, 0, 15 y 30 g L⁻¹ selenato de sodio (S1, S2 y S3) en la etapa inicial silicua. Estos tratamientos se aplicaron en los cultivares Zarfam, Okapi y Sarigol. Los análisis de varianza se realizaron con el procedimiento GLM (SAS Institute, 2002), considerando que los residuales fueron al azar, homogéneos y con una distribución normal alrededor de una media de cero. Las medias de tratamientos se compararon con LSMEANS ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según el análisis de varianza combinado para 2006 y 2007, el efecto del año no fue significativo, excepto para rendimientos biológicos y de semilla (Cuadro 2). Además, en la mayoría de los casos la interacción de años (Y) con tratamientos no fue significativa. Vale la pena mencionar que la interacción cuatripartita tuvo un efecto significativo en la pérdida de electrolitos celulares y el contenido de clorofila (Cuadro 2).

El análisis de las medias de los tratamientos (Cuadro 3) reveló que la mayor pérdida de electrolitos se registró en el cultivar Zarfam, y el mayor contenido de clorofila en el cultivar Okapi. El rendimiento

Table 2. Summary of combined F significance from analysis of variance of irrigation, zeolite, selenium and cultivar in 2006 and 2007.
Tabla 2. Resumen de la significancia de F combinado del análisis de varianza de la irrigación, la zeolita, el selenio y los cultivares en el 2006 y 2007.

S.O.V	df	Cellular electrolyte leakage ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	Chlorophyll a (mg g FW^{-1})	Chlorophyll b (mg g FW^{-1})	Chlorophyll a+b (mg g FW^{-1})	Seed yield (kg ha^{-1})	Biological yield (kg ha^{-1})
Y	1	ns	ns	ns	ns	**	**
R(Y)	4	**	**	**	**	ns	ns
I	1	**	**	**	**	**	**
S	2	**	**	**	**	**	**
Z	1	**	**	**	**	**	**
I*S	2	**	**	**	**	**	**
I*Z	1	**	**	**	**	**	**
I*Y	1	ns	ns	ns	ns	**	*
S*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Z*Y	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S*Z	2	**	**	**	**	**	ns
I*S*Z	2	**	**	**	**	**	**
I*S*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*Z*Y	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S*Z*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*S*Z*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
R*I*S*Z(Y)	44	**	**	**	**	ns	ns
C	2	**	**	**	**	**	**
I*C	2	**	**	**	**	ns	ns
S*C	4	**	**	**	**	**	**
Z*C	2	**	**	**	**	**	**
C*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*C*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S*C*Y	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Z*C*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*S*C	4	**	**	**	**	ns	**
S*Z*C	4	**	**	**	**	ns	**
I*Z*C	2	**	**	**	**	*	ns
I*S*C*Y	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*S*Z*C	4	*	**	**	**	**	**
S*Z*C*Y	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*Z*C*Y	2	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I*S*Z*C*Y	4	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V		0.19	0.81	1.29	0.80	11.49	8.64

Y: Year; I: irrigation; S: selenium; Z: zeolite; C: cultivars ♦ Y: año; I: irrigación; S: selenio; Z: zeolita; C: cultivares.

ns: Not significant ♦ No significativo; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

Increase in electrolyte leakage represents cell membrane degradation as well as chloroplast destruction, which leads to chlorophyll content reduction (Kumar and Paul, 1997). Okapi cultivar showed the highest seed and biological yields and under all conditions zeolite application increased seed yield in the three cultivars and improved biological yield in Okapi (Table 3). Under full irrigation, Se application (15 g L^{-1}) and no zeolite, Zarfam cultivar showed the highest electrolyte leakage and the lowest

de semillas fue similar entre los cultivares de canola, mientras que el rendimiento biológico mayor fue en el cultivar Zarfam. En condiciones de estrés hídrico, la mayor y la menor liberación de electrolitos ocurrieron en los cultivares Zarfam y Okapi, debido a sus diferencias en la sensibilidad al estrés hídrico, mientras que el contenido menor de clorofila se registró en el cultivar Zarfam (Cuadro 3).

El aumento de la liberación de electrolitos representa la degradación de las membranas celulares, y

Table 3. Effects of irrigation, zeolite and selenium treatments on cellular electrolyte leakage, chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a+b, seed yield and biological yield of three canola cultivars in 2006 and 2007.**Cuadro 3. Efectos del riego, los tratamientos de zeolita y selenio en la pérdida de electrolitos celulares, clorofila a, clorofila b, clorofila a+b, el rendimiento de semillas y el rendimiento biológico de tres cultivares de canola en el 2006 y 2007.**

Treatments	Cultivars	Cellular electrolyte leakage ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	Chlorophyll a (mg g FW ⁻¹)	Chlorophyll b (mg g FW ⁻¹)	Chlorophyll a+b (mg g FW ⁻¹)	Seed yield (kg ha ⁻¹)	Biological yield (kg ha ⁻¹)
I ₁ S ₁ Z ₁	Zarfam	1391.16 a	1.60 c	0.93 b	2.52 c	4277.8 a	18813 a
	Okapi	1336.00 c	1.68 a	0.98 a	2.65 a	3521.7 a	15528 b
	Sarigol	1357.66 b	1.65 b	0.96 c	2.59 b	4300.8 a	15229 b
I ₁ S ₁ Z ₂	Zarfam	1097.66 a	1.96 c	1.14 c	3.08 c	5915.7 a	21201 a
	Okapi	1076.00 c	2.04 a	1.19 a	3.21 a	5627.7 a	21799 a
	Sarigol	1085.00 b	2.01 b	1.17 b	3.16 b	5584.0 a	22097 a
I ₁ S ₂ Z ₁	Zarfam	1305.66 a	1.73 c	1.00 c	2.71 c	4827.8 a	19111 a
	Okapi	1260.16 c	1.82 a	1.05 a	2.86 a	4980.5 a	16424 a
	Sarigol	1280.33 b	1.78 b	1.03 b	2.80 b	4522.2 a	15826 a
I ₁ S ₂ Z ₂	Zarfam	1054.16 a	2.09 c	1.21 c	3.29 c	6615.3 a	23740 a
	Okapi	1043.66 a	2.17 a	1.26 a	3.40 a	6386.3 a	23590 a
	Sarigol	1046.16 a	2.12 b	1.23 b	3.34 b	5599.3 a	23292 a
I ₁ S ₃ Z ₁	Zarfam	1230.00 a	1.86 c	1.08 a	2.92 c	5079.8 a	19858 a
	Okapi	1202.33 c	1.92 a	1.12 a	3.03 a	5125.7 a	17320 b
	Sarigol	1217.83 b	1.89 b	1.09 a	2.97 b	5064.7 a	18812 ab
I ₁ S ₃ Z ₂	Zarfam	1021.83 a	2.21 b	1.28 b	3.47 b	7180.5 a	31205 a
	Okapi	1011.66 b	2.28 a	1.32 a	3.58 a	7585.3 a	25083 b
	Sarigol	1017.50 ab	2.26 a	1.31 a	3.55 a	6011.8 b	19708 c
I ₂ S ₁ Z ₁	Zarfam	2555.66 a	0.95 b	0.55 b	1.50 b	1588.8 b	10750 a
	Okapi	2484.16 c	1.05 a	0.61 a	1.66 a	1680.7 b	8062.5 c
	Sarigol	2514.83 b	1.02 a	0.59 a	1.62 a	2276.3 a	9257.0 b
I ₂ S ₁ Z ₂	Zarfam	2049.66 a	1.30 c	0.75 c	2.04 c	3368.8 a	16125.0 a
	Okapi	1979.83 c	1.37 a	0.79 a	2.15 a	3246.5 a	14631.7 ab
	Sarigol	2007.00 b	1.34 b	0.78 b	2.11 b	3063.2 a	13586.8 b
I ₂ S ₂ Z ₁	Zarfam	2432.33 a	1.07 b	0.62 b	1.69 b	3025.0 a	14632.1 a
	Okapi	2386.66 c	1.11 a	0.64 a	1.74 a	2612.5 a	11048.6 b
	Sarigol	2400.50 b	0.99 c	0.58 c	1.56 c	2620.2 a	11496.6 b
I ₂ S ₂ Z ₂	Zarfam	1892.66 a	1.40 c	0.82 c	2.20 c	3437.5 a	16573 a
	Okapi	1853.83 c	1.49 a	0.86 a	2.23 a	3368.8 a	15379 ab
	Sarigol	1869.50 b	1.45 b	0.84 b	2.28 a	3162.5 a	14035 b
I ₂ S ₃ Z ₁	Zarfam	2342.83 a	1.12 b	0.65 a	1.76 b	2803.3 ab	12243 a
	Okapi	2303.50 c	1.14 a	0.66 a	1.80 a	3468.0 a	9227 b
	Sarigol	2322.66 b	1.05 c	0.60 b	1.65 c	2360.5 b	10451 ab
I ₂ S ₃ Z ₂	Zarfam	1834.66 a	1.52 c	0.88 c	2.40 c	3158.5 a	15453.0 a
	Okapi	1782.00 c	1.60 a	0.93 a	2.51 a	2887.5 ab	12989.7 b
	Sarigol	1797.50 b	1.56 b	0.90 b	2.45 b	2734.7 b	11645 b

I₁: complete irrigation; I₂: limited irrigation at stem elongation stage; S₁: 0 g L⁻¹ selenium; S₂: 15 g L⁻¹ selenium; S₃: 30 g L⁻¹ selenium; Z₁: no zeolite; Z₂: 10 t ha⁻¹ zeolite. Means in a column of each section followed by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)
 ♦ I₁: riego completo; I₂: riego limitado en etapa de elongación del tallo; S₁: 0 g L⁻¹ selenio; S₂: 15 g L⁻¹ selenio; S₃: 30 g L⁻¹ selenio; Z₁: sin zeolita; Z₂: 10 t ha⁻¹ de zeolita. Las medias en una columna de cada sección seguidas por letras distintas son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

chlorophyll content, while inverse results were observed in Okapi (Table 3).

Under the same treatment conditions, an increase in Se concentration increased chlorophyll b content in Zarfam and Sarigol cultivars. In addition, zeolite application under full irrigation plus Se (30 g L⁻¹)

la destrucción de cloroplastos, lo que conduce a la reducción del contenido de clorofila (Kumar y Paul, 1997). El cultivar Okapi tuvo los rendimientos mayores de semilla y biológicos y en todas las condiciones la aplicación de zeolita aumentó la producción de semillas en los tres cultivares y mejoró

increased the variables (Table 3). Under water stress, the highest electrolyte leakage and chlorophyll content was found in Zarfam cultivar, which suggest high resistance to water stress (Table 3).

Cultivars treated with 15 g L⁻¹ Se, full irrigation and zeolite did not change seed and biological yields. But 30 g L⁻¹ Se and full irrigation, increased biological yield of Zarfam. In contrast, 30 g L⁻¹ Se, full irrigation and zeolite increased seed yield of Okapi and Zarfam and caused the highest biological yield in Zarfam.

Under water stress the Sarigol cultivar produced the highest seed yield and the highest biological yield was observed in Zarfam cultivar; and water stress plus zeolite increased seed yield in Zarfam and Okapi and biological yield in Okapi. The highest harvest index was obtained from Okapi and Sarigol treated with water stress and 15 g L⁻¹ Se. The analysis of these results show that 15 g L⁻¹ Se plus water stress and zeolite had no significant effect on seed and biological yields. Water stress plus 30 g L⁻¹ Se caused the highest biological yield in Zarfam and the highest seed yield in Okapi (Table 3). The highest and lowest seed yields were obtained from Zarfam and Sarigol under water stress, zeolite, and Se application (Table 3).

Stem elongation, flowering, pollination, and seed filling are the most sensitive stages to water stress in canola (Thomas *et al.*, 2004) and at these stages yield is decreased (Wright *et al.*, 1995). It seems that zeolite application improves growth and seed yield by holding water into the soil. Positive effect of zeolite on plant height, number of branches, yield, and yield components can be due to a decrease in nitrogen leaching and increase in nitrogen availability (Polat *et al.*, 2004). Nonetheless, plant response to water stress is variable and depends on stress intensity, and duration, and plant growth stage (Chaves *et al.*, 2003).

Water stress decreases relative water content, chlorophyll, and cell membrane stability over the growing period (Chandrasekar *et al.*, 2000). Increase in cellular electrolyte leakage on account of water stress is due to cell membrane degradation. Kumar *et al.* (1993) show that electrical conductivity in canola leaves is dependent on relative humidity and turgor potential, while this parameter is dependent on relative humidity in mustard (*Brassica campestris*), and under conditions of mild stress chlorophyll

el rendimiento biológico en Okapi (Cuadro 3). Con riego completo, aplicación de Se (15 g L⁻¹) y sin zeolita, el cultivar Zarfam tuvo la mayor pérdida de electrolitos y el contenido menor de clorofila, mientras que en Okapi los resultados fueron inversos (Cuadro 3).

Bajo las mismas condiciones de tratamiento, el aumento de la concentración de Se incrementó el contenido de clorofila *b* en los cultivares Zarfam y Sarigol. Además, la aplicación de zeolita con riego completo más Se (30 g L⁻¹) aumentó las variables (Tabla 3). Con estrés hídrico, la mayor pérdida de electrolitos y contenido más alto de clorofila ocurrió en Zarfam, lo que indica alta resistencia al estrés hídrico (Cuadro 3).

Los cultivares tratados con 15 g L⁻¹ Se, riego completo y zeolita no cambiaron los rendimientos de semilla y biológico. Sin embargo, 30 g L⁻¹ Se y riego completo aumentaron el rendimiento biológico de Zarfam. En contraste, 30 g L⁻¹ Se, riego completo y zeolita aumentaron el rendimiento de semilla de Okapi y Zarfam, y produjeron el rendimiento biológico mayor en Zarfam.

En estrés hídrico el cultivar Sarigol produjo el rendimiento mayor de semilla y en Zarfam se detectó el rendimiento biológico mayor. El estrés hídrico, más la zeolita aumentaron el rendimiento de semillas en Zarfam y Okapi, como también el rendimiento biológico en Okapi. El mayor índice de cosecha se obtuvo en Okapi y Sarigol tratados con estrés de agua y 15 g L⁻¹ Se. El análisis de estos resultados revela que 15 g L⁻¹ Se más estrés hídrico y zeolita no tuvieron efecto significativo en los rendimientos de semilla y biológicos. El estrés hídrico más 30 g L⁻¹ Se causó el rendimiento biológico más alto en Zarfam y el rendimiento de semilla mayor en Okapi (Cuadro 3). Los rendimientos de semilla más altos y más bajos se obtuvieron en Zarfam y Sarigol bajo estrés hídrico, zeolita y Se (Cuadro 3).

La elongación del tallo, la floración, la polinización y llenado de semillas son las etapas más sensibles al estrés hídrico en la canola (Thomas *et al.*, 2004) y en estas etapas se reduce el rendimiento (Wright *et al.*, 1995). Al parecer, la aplicación de zeolita mejora el crecimiento y el rendimiento de semilla al mantener agua en el suelo. El efecto positivo de la zeolita en la altura de la planta, el número de ramas, el rendimiento y los componentes del rendimiento puede deberse a una disminución en la lixiviación del nitrógeno

concentration increases due to leaf area reduction. Mild water stress increases protoplasm concentration and decreases leaf extension, while severe stress inhibits chlorophyll synthesis completely (Kumar *et al.*, 1993). Loss of cell water content increases chlorophyll concentration in leaves; the effect of water stress on chlorophyll content is erratic and it depends on environmental conditions and genetics of the plant (Ward *et al.*, 1992). Increase in stress intensity leads to chlorophyll degradation (Kumar and Paul, 1997), hasty senescence, chloroplast breakdown and chlorophyll degradation (Lawlor and Leach, 1985). Kumar and Paul (1997) report that water stress at flowering and seed filling stage significantly decreases Chl *a* and Chl *b*. Furthermore, when soil water potential reaches to -1.5 MPa, the chlorophyll content decreases 82 % due to pigment degradation (Chandrasekar *et al.*, 2000).

Zeolite with high CEC acts as a sink for nutrient, such as ammonium, and thus improves plant growth, especially in sandy soils (Polat *et al.*, 2004). Water can penetrate easily into the zeolite structure, and zeolite application increases soil water retention capacity (Rehakova *et al.*, 2004). In addition, Se application increases relative water content and improves water uptake from roots (Kuznestsov *et al.*, 2003).

CONCLUSIONS

Under all conditions of this study, Zarfam cultivar showed the highest electrolyte leakage and lowest chlorophyll content. Okapi cultivar had the highest chlorophyll content under full and limited irrigation. Seed yield decreased significantly as a result of water stress. According to these results, zeolite and selenium applications increased seed yields, but not under water stress. Biological yield increased due to selenium and zeolite application, especially under water stress.

LITERATURE CITED

- Basaga, H. S. 1989. Biochemical aspects of free radicals. *J. Biochem.* 68: 989-998.
- Chandrasekar, V., R. K. Sairam, and G. C. Srivastava. 2000. Physiological and biochemical response of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. *J. Agron. Crop Sci.* 185: 219-225.
- Chaves, M. M., J. P. Maroco, and J. S. Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought- from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30: 239-264.

y al aumento del nitrógeno disponible (Polat *et al.*, 2004). Sin embargo, la respuesta de la planta al estrés hídrico es variable y depende de la intensidad y duración del estrés, y de la etapa de crecimiento de las plantas (Chaves *et al.*, 2003).

El estrés hídrico disminuye el contenido relativo de agua, la clorofila, y la estabilidad de las membranas celulares durante el período de crecimiento (Chandrasekar *et al.*, 2000). El aumento de la pérdida de electrolitos celulares debido a la escasez de agua se debe a la degradación de las membranas celulares. Kumar *et al.* (1993) señalan que la conductividad eléctrica en las hojas de canola depende de la humedad relativa y el potencial de turgencia, mientras que este parámetro depende de la humedad relativa en la mostaza (*Brassica campestris*), y bajo condiciones de estrés leve la concentración de clorofila aumenta debido a la reducción del área foliar. La escasez leve de agua aumenta la concentración de protoplasma y disminuye la extensión de las hojas, mientras que el estrés hídrico severo inhibe por completo la síntesis de la clorofila (Kumar *et al.*, 1993). La pérdida del contenido de agua celular aumenta la concentración de clorofila en las hojas; el efecto del estrés hídrico en el contenido de clorofila es irregular y depende de las condiciones ambientales y la genética de la planta (Ward *et al.*, 1992.). El aumento de intensidad del estrés conduce a la degradación de la clorofila (Kumar y Paul, 1997), a la senescencia acelerada, desintegración de cloroplastos y degradación de la clorofila (Lawlor y Leach, 1985). Kumar y Paul (1997) indican que el estrés hídrico durante la floración y llenado de las semillas disminuye significativamente Chl *a* y Chl *b*. Además, cuando el potencial de agua del suelo alcanza a -1.5 MPa, el contenido de clorofila disminuye en 82 % debido a la degradación del pigmento (Chandrasekar *et al.*, 2000).

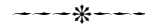
La zeolita con CIC alta actúa como reserva de nutrientes, tal como el amonio, y por tanto mejora el crecimiento de las plantas, especialmente en suelos arenosos (Polat *et al.*, 2004). El agua puede penetrar fácilmente en la estructura de la zeolita, y la aplicación de ésta aumenta la capacidad de retención de agua del suelo (Rehakova *et al.*, 2004). Además, la aplicación de Se aumenta el contenido relativo de agua y mejora la absorción de agua desde las raíces (Kuznestsov *et al.*, 2003).

- Deepak, M., and P. N. Wattal. 1995. Influence of water stress on seed yield of Canadian rape at flowering and role of metabolic factors. *Plant Physiol. Biochem. New Delhi* 22(2): 115-118.
- Gladyshev, V. N., K. T. Jeang, J. C. Wootton, and D. L. Hatfield. 1998. A new human selenium-containing protein: purification, characterization, and cDNA sequence. *J. Biol. Chem.* 273: 8910-8915.
- Kumar, P. B., and N. K. Paul. 1997. Effect of water stress on chlorophyll, proline and sugar accumulation in rape. *Bangladesh J. Bot.* 26: 1983-85.
- Kumar, A., J. Elston, and S. K. Yadar. 1993. Effect of water difficult and differences in sugar accumulation in rape Bangladesh. *J. Bot.* 26-1983-85.
- Kuznetsov, V. V., V. P. Kholodova, and B. A. Yagodin. 2003. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. *Dokl. Biol. Sci.* 390: 266-268.
- Lawlor, D. W., and J. E. Leach. 1985. *Leaf Growth and Water Deficit*. Cambridge University Press. pp: 267-294.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148: 350-382.
- Mumpton, FA. and P. H. Fisherman. 1977. The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *J. Anim. Sci.* 45: 1188-1203.
- Ok, C. H., S. H. Anderson, and E. H. Ervin. 2003. Amendments and construction systems for improving the performance of sand-based putting greens. *Agron. J.* 95: 1583-1590.
- Pattangual, W., and M. Madore. 1999. Water deficit effects on raffinose family oligosaccharide metabolism in *Coleus*. *Plant Physiol.* 121: 993-998.
- Polat, E., M. Karaca, H. Demir, and A. Naci-Onus. 2004. Use of natural zeolite (clinoptilolite) in agriculture. *J. Fruit Ornam.* 12: 183-189.
- Rehakova, M., S. Cuvanova, M. Dzivak, J. Rimarand, and Z. Gavalova. 2004. Agricultural and agrochemical uses of natural zeolite of the clinoptilolite type. *Curr. Opin. Soil State Materials Sci.* 8: 397-404.
- Salin, M. L. 1991. Chloroplast and mitochondrial mechanism for protection against oxygen toxicity. *Free Radical Res. Commune.* 12-13: 851-858.
- SAS Institute Inc., 2002. *The SAS System for Windows*, Release 9.0. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
- Seppanen, M., M. Turakainen, and H. Hartikainen. 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Sci.* 165:311-319.
- Shen, Q. Y., M. Turakainen, and M. Seppänen. 2008. Effects of selenium on maize ovary development at pollination stage under water deficits. *Agric. Sci. China* 7(11): 1298-1307.

CONCLUSIONES

En todas las condiciones de este estudio, el cultivar Zarfam mostró la mayor pérdida de electrolitos y menor contenido de clorofila. El cultivar Okapi presentó el mayor contenido de clorofila bajo riego total y limitado. El rendimiento de semilla disminuyó significativamente por la escasez de agua. De acuerdo con estos resultados, las aplicaciones de zeolita y selenio aumentaron el rendimiento de semillas, pero no bajo estrés hídrico. El rendimiento biológico aumentó debido a las aplicaciones de selenio y zeolita, especialmente bajo estrés hídrico.

—Fin de la versión en Español—



- Thomas, M., J. Robertson, S. Fukai, and M. B. Peoples. 2004. The effect of timing and severity of water deficit on growth, development, yield accumulation and nitrogen fixation of mungbean. *Field Crops Res.* 86: 67-80.
- Triboi-Blondel, A. M., and M. Renard. 1999. Effect of temperature and stress of fatty acid composition of rapeseed oil. *In: International Rapeseed Congress*, Canberra, Australia. pp: 12-17.
- Ward, K., R. Scarth, J. Daun, and P. B. E. Mcvetty. 1992. Effects of genotype and environment on seed chlorophyll degradation during ripening in four cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Can. J. Plant Sci.* 72: 643-649.
- Wright, P. R., J. M. Morgan, R. S. Jossop and A. Cass. 1995. Comparative adaptation of canola (*Brassica napus* L.) and indian mustard (*Brassica Juncea*) to soil water deficit. *Field Crop Res.* 42: 1-13.
- Yu, B. J., H. M. Gong, and Y. L. Liu. 1998. Effects of calcium on lipid composition and function of plasma membrane and tonoplast vesicles isolated from roots of barley seedlings under salt stress. *J. Plant Nutr.* 21: 1589-1600.
- Zahedi, H., G. Noormohamadi, A. H. Shirani-Rad, D. Habibi, and M. Boojar. 2009. The effects of zeolite soil applications and selenium foliar applications on growth yield and yield components of three canola cultivars under drought stress. *World Applied Sci. J.* 7 (2): 255-262.