

پاسخ‌های فیزیولوژیک سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) به سیلیکات کلسیم تحت تنش‌های شوری و خشکی با پتانسیل اسمزی برابر

وحیده رحمانی، محسن موحدی دهنوی*، علیرضا یدوی و حمیدرضا بلوچی و محمد حمیدیان

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۴/۲۴)

چکیده

به منظور بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک سیاهدانه به سیلیکات کلسیم تحت تنش شوری و خشکی با پتانسیل اسمزی برابر، آزمایشی به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. فاکتور اول شامل هفت سطح (تنش شوری و خشکی با پتانسیل اسمزی برابر ۲/۴-، ۴/۹- و ۷/۴- بار و تیمار شاهد) بود که در محلول هوگلند اعمال شد. فاکتور دوم شامل سیلیکات کلسیم در دو سطح صفر (شاهد) و ۱ میلی‌مولار بود. شوری با استفاده از کلرید سدیم (NaCl) و خشکی با پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ اعمال شد. نتایج نشان داد در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، تنش شوری و خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، میزان مالون دی‌آلدهید و میزان پرولین و قندهای محلول برگ همچنین سبب کاهش محتوای نسبی آب و میزان کلروفیل برگ گردید. کاربرد سیلیکات کلسیم موجب تخفیف اثر تنش‌های شوری و خشکی شد، به طوری که افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، میزان کلروفیل، میزان پرولین و قند محلول و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید برگ را در پی داشت. در شرایط خشکی نسبت به شوری با پتانسیل اسمزی برابر محتوای آب نسبی کمتر، ولی محتوای پرولین، قندهای محلول، میزان مالون دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر بود که نشان می‌دهد حساسیت سیاهدانه از نظر صفات فیزیولوژیک به خشکی بیشتر از شوری است.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، قند محلول، کلروفیل

مقدمه

بارندگی کم (حدود یک سوم میانگین جهانی) پیوسته دچار خشک‌سالی و شوری خاک بوده است. تنش شوری و خشکی دو عامل منفی در رشد، توسعه و بهره‌وری گیاهان در بسیاری از کشورها است (Zhu, 2002). به‌طور کلی غلظت بالای نمک در خاک علاوه بر ایجاد عدم تعادل غذایی به دلیل محتوای بالای سدیم و کلر، باعث کمبود آب در گیاهان با افزایش پتانسیل اسمزی می‌شود؛ از طرفی در گیاهان تحت تنش، گونه‌های اکسیژن فعال افزایش و رشد گیاه در نهایت کاهش می‌یابد.

سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دارویی از تیره آلاله (Ranunculaceae) است (D'Antuono et al., 2002). این گیاه در برخی نقاط ایران مانند اراک و کرمانشاه به صورت خودرو می‌روید و در بعضی نقاط مانند خراسان و اصفهان به صورت زراعی برای مصرف در صنایع غذایی و دارویی کشت و کار می‌شود (Ramadan and Morsel, 2002). ایران به دلیل قرار گرفتن در منطقه خشک و نیمه‌خشک و دارا بودن میانگین

(Hajiboland et al., 2016; Sonobe et al., 2010;) و پرولین (Lee et al., 2010; Yin et al., 2013) همچنین سیلیکون با تعدیل سامانه‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه، آسیب ناشی از اکسیژن فعال را در گیاهان تحت تنش شوری و خشکی کاهش می‌دهد (Kim et al., 2017) گزارش شده است که سیلیکون با جلوگیری از آسیب غشای ناشی از اکسیژن فعال از طریق تنظیم دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تشکیل مالون دی‌آلدئید را کاهش می‌دهد (Zhu et al., 2004; Zhu and Gong, 2014). به همین دلیل سیلیکون می‌تواند تجمع گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش دهد؛ که منجر به بهبود دستگاه فتوسنتزی، حفظ ثبات غشایی، یکپارچگی ساختار کلروپلاست‌ها و افزایش محتوای کلروفیل، تقویت انتقال نور و در نهایت حفظ عملکرد فتوسنتز بالاتر در شرایط تنش شوری و خشکی می‌گردد (Wang et al., 2019). علاوه بر این سیلیکون با بیان برخی از ژن‌های مرتبط به سامانه فتوسنتزی و تنظیم فرایند فتوشیمیایی، باعث افزایش فتوسنتز در نتیجه کاهش اثرات منفی تنش خشکی می‌شود (Zhang et al., 2018). با توجه به اینکه اطلاعات اندکی در خصوص اثرات تنش‌های شوری و خشکی بر پاسخ‌های فیزیولوژیک سیاهدانه وجود دارد، همچنین با توجه به اهمیت نقش سیلیکات کلسیم در تخفیف اثرات تنش‌های محیطی انتظار می‌رود که کاربرد آن بتواند تا حدودی از اثرات مخرب تنش‌های خشکی و شوری بکاهد. بنابراین هدف از اجرای این پژوهش بررسی تأثیر سیلیکات کلسیم بر پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیک سیاهدانه تحت تنش شوری و خشکی با پتانسیل اسمزی برابر است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. فاکتور اول شامل هفت سطح تنش شوری و خشکی با پتانسیل اسمزی برابر (۲/۴-، ۴/۹-، ۷/۴- بار همراه با یک تیمار شاهد) بود که در محلول هوگلند اعمال شد. فاکتور دوم شامل سیلیکات کلسیم در دو سطح صفر (شاهد) و

گیاهان برای مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز و پروکسیداز یا آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند کارتنوئیدها استفاده می‌کنند (Bharti et al., 2019). همچنین در تنش شوری و خشکی تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول در گیاه برای تنظیم اسمزی، افزایش می‌یابد (Khan et al., 2015). در واقع تنظیم اسمزی یک تغییر بیوشیمیایی در گیاهان است که در شرایط تنش رخ می‌دهد. این فرایند از تخریب ساختار سلول‌های گیاهی و سمیت یونی جلوگیری و جذب آب را در گیاهان حفظ می‌کند (Qureshi et al., 2013). سیاهدانه یکی از گیاهان دارویی مهم است که مانند سایر گیاهان با تنش‌های محیطی متنوعی روبه‌رو می‌شود. تحقیق کبیری و همکاران (۱۳۹۲) بر روی سیاهدانه نشان داد که با افزایش سطوح خشکی، میزان قندهای محلول برگ افزایش پیدا می‌کند. سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری بر کلروفیل سیاهدانه دارد و با افزایش سطوح شوری میزان کلروفیل کاهش پیدا می‌کند (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۸). پژوهشگران با بررسی گیاه گلرنگ نشان دادند که با افزایش تنش شوری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا می‌کند (کریمی و همکاران، ۱۳۹۴). یکی از راه‌های پیشنهادی برای کاهش اثرات تنش استفاده از ترکیبات کاهش‌دهنده اثر تنش مانند سیلیکات کلسیم است. سیلیسیم از عناصر شبه ضروری برای گیاهان است و اثرات مفیدی برای گیاهان در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده دارد (Pilon-Smits et al., 2009). سیلیسیم با افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم روبیسکو و تعداد و سطح برگ همچنین با کاهش تنش اکسیداتیو و حفاظت از ماکرومولکول‌هایی نظیر غشای سلولی و پروتئین‌ها باعث افزایش فتوسنتز گیاه در نتیجه افزایش میزان کربوهیدرات‌ها، قندهای محلول و ذخایر فتوسنتزی می‌شود (Savvas and Ntatsi, 2015). گزارش‌های بسیاری وجود دارد مبنی بر اینکه کاربرد سیلیکون همچنین می‌تواند تحمل گیاه را نسبت به تنش‌های شوری و خشکی با تغییر در سطح ترکیبات محلول مانند قندهای محلول کل، و اسیدهای آمینه آزاد کل

قطعات برگی توزین‌شده، در ظرف پتری در بسته در آب مقطر غوطه‌ور گردیده و به مدت ۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شدت نور کم قرار داده شده. پس از این مدت آب سطحی قطعات برگی، با قراردادن آن‌ها بین دو لایه کاغذ صافی خشک شده و وزن آماس آن‌ها بلافاصله با دقت تعیین گردید (TW). سپس قطعات برگی در آون در دمای ۹۵ تا ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۴ ساعت خشک شد و وزن خشک آن‌ها (DW)، نیز با دقت تعیین شد. میزان محتوای نسبی آب (RWC) با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید (Weatherley, 1950).

$$\text{RWC (\%)} = (\text{FW} - \text{DW} / \text{TW} - \text{DW}) \times 100 \quad \text{رابطه ۳}$$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل: ۰/۵ گرم برگ تازه در یک هاون چینی ریخته شد و به آن ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سرد در دو مرحله (در هر مرحله ۵ میلی‌لیتر) و ۰/۵ گرم پودر کربنات کلسیم اضافه گردید. عمل سائیدن انجام و مخلوط یکنواخت حاصل درون لوله‌های مخصوص سانتریفیوژ ریخته شد و در دمای پایین به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، سپس جذب محلول رویی در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda EZ 210) خوانده شد. میزان کلروفیل با استفاده از روابط ۴ تا ۶ محاسبه شد (Arnon, 1949).

رابطه ۴

$$\text{Chl a (mg/gfw)} = [12.7 \times (\text{D663}) - 2.69 \times (\text{D645})] \times V / (1000 \times W)$$

رابطه ۵

$$\text{Chl b (mg/gfw)} = [22.9 \times (\text{D645}) - 4.68 \times (\text{D663})] \times V / (1000 \times W)$$

رابطه ۶

$$\text{Chl T (mg/gfw)} = [20.2 \times (\text{D645}) - 8.02 \times (\text{D663})] \times V / (1000 \times W)$$

در این رابطه D663 جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۶۳ نانومتر، D645 جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۴۵ نانومتر، V حجم نمونه استخراج‌شده (میلی‌لیتر) و W وزن تر نمونه برگی (گرم) هستند.

تهیه عصاره الکلی از برگ‌های سیاهدانه: جهت اندازه‌گیری میزان پرولین و قندهای محلول ابتدا لازم بود تا

یک میلی‌مولار بود. شوری با استفاده از کلرید سدیم (NaCl) و خشکی با پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG 6000) اعمال شد. اندازه‌گیری کلرید سدیم مورد نیاز با استفاده از رابطه ۱ (کافی و همکاران، ۱۳۹۵) و پلی‌اتیلن گلیکول با استفاده از رابطه ۲ (Michel and Kaufmann, 1973) انجام گرفت.

$$\Pi = -MIRT \quad \text{رابطه ۱}$$

که در این رابطه Π پتانسیل اسمزی محلول، M مولاریته محلول نمک کلرید سدیم، I ضریب یونیزاسیون نمک، R ثابت گازها و T دما برحسب درجه کلون است.

رابطه ۲

$$\Psi_s = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T$$

که در این فرمول پتانسیل اسمزی محلول برحسب بار، C غلظت PEG برحسب گرم بر کیلوگرم آب و T دما برحسب درجه سلسیوس است.

هر واحد آزمایشی شامل دو گلدان بود. برای اجرای آزمایش تعداد ۸۴ گلدان نایلونی به ارتفاع ۲۵ و قطر ۱۸ سانتی‌متر با پرلیت پر شد. در هر گلدان تعداد ۱۰ عدد بذر سیاهدانه به عمق دو سانتی‌متر کشت شد. زمانی که ۵۰ درصد سبز شدن بذرها صورت گرفت، گلدان‌ها با یک چهارم غلظت محلول هوگلند آبیاری شدند. پس از آنکه گیاهچه‌ها بیشتر رشد نمودند، آبیاری با نصف غلظت محلول غذایی محلول هوگلند انجام شد. دو هفته پس از استقرار، گیاهان تنک شدند و در هر گلدان پنج بوته نگه داشته شد. با افزودن تدریجی کلرید سدیم و پلی‌اتیلن گلیکول در محلول هوگلند اعمال تنش شوری و خشکی آغاز گردید. اعمال تیمارهای خشکی و شوری تا پایان مرحله رویشی و همزمان با نیاز آبی گیاه ادامه یافت.

نمونه‌گیری: ۲۰ روز پس از شروع اعمال تنش‌ها، از یکی از دو واحد آزمایشی هر تیمار، نمونه‌گیری از برگ تازه برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک به شرح زیر صورت گرفت.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: برگ‌ها به قطعاتی به طول ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر تقسیم شدند. به‌طور تصادفی از قطعات مذکور سه نمونه تقریباً ۲/۵ تا ۳ گرمی انتخاب شد (FW).

اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر و با ضریب خاموشی ($10^5 \text{ Mm}^{-1} \text{cm}^{-1}$) محاسبه گردید (Heath and Packer, 1965).

رابطه ۷

$$\text{MDA (Mm gr}^{-1}\text{)} = ((A_{532\text{nm}}/155) - (A_{600\text{nm}}/155) / 0.2)$$
 در این رابطه A_{532} جذب نمونه در ۵۳۲ نانومتر، A_{600} جذب نمونه در ۶۰۰ نانومتر و ۰/۲ گرم وزن تر نمونه برگ است.

تهیه عصاره آنزیمی: ۰/۱ گرم نمونه برگ در ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $\text{pH}=7/8$ ، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و PVP ۰/۱ مولار (یا ۱ درصد) بر روی یخ همگون می‌گردد. همگن‌های حاصل در دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شود. از بخش شناور رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده می‌گردد (پورقاسمیان و احسان‌زاده، ۱۳۹۲).

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز: به ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، با اسیدیت ۷ حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه گردید و در طول موج ۲۴۰ نانومتر و توسط اسپکتروفتومتر میزان کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه خوانده شد. با افزودن H_2O_2 تجزیه آن شروع شد و موجب کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر گردید. ضریب خاموشی برای کاتالاز ۰/۰۳۹۴ بر میلی‌مول بر سانتی‌متر است (Aebi, 1984).

اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز: به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار با اسیدیت ۶/۱، ۰/۵ میلی‌لیتر گاپاکول ۲۸ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۵ مولار اضافه و جذب محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. با اضافه کردن H_2O_2 ، واکنش در کووت آغاز و خواندن جذب بلافاصله در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت یک دقیقه (با فواصل ۲۰ ثانیه) انجام شد. واحد فعالیت به صورت تفاوت جذب بر دقیقه بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید (Ghanati et al., 2002).

تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS ver. 9.1 و رسم نمودارها از طریق نرم‌افزار Excel 2013 انجام شد. جهت مقایسه‌ی میانگین برهمکنش عوامل آزمایش مقایسه سطوح

عصاره الکلی از برگ‌ها تهیه شود. بدین منظور ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ انتخاب و در هاون کاملاً له گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ به آن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. مایع رویی جدا سپس دو مرتبه و هر بار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ به بخش جامد باقی‌مانده اضافه و کاملاً شستشو گردید. سپس بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شد. در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفیوژ ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و فاز مایع بالایی به دقت جدا و تا زمان اندازه‌گیری به یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید (Paquine and Lechasseur, 1979).

اندازه‌گیری میزان پرولین برگ: به ۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی ۵ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال (۹۹/۹٪) اضافه و نمونه‌ها داخل حمام آب‌جوش (بن‌ماری) به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند. پس از خنک‌شدن از بنزن برای استخراج پرولین استفاده و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد (Paquine and Lechasseur, 1979).

اندازه‌گیری قندهای محلول کل برگ: به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی ۳ میلی‌لیتر آنترن تازه تهیه‌شده اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده شد. پس از خنک‌شدن نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Irigoyen et al., 1992).

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید: نمونه‌های منجمد شده به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA ۰/۱ درصد عصاره‌گیری و در لوله آزمایش دربار به حجم ۱۰ میلی‌لیتر ریخته شد. سپس در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه به مدت نیم ساعت و با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ گردید. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از دستگاه به ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف‌شده یک میلی‌لیتر TBA ۰/۵ درصد، که با TCA ۲۰ درصد تهیه شده است، اضافه و در حمام آب‌گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها از حمام آب‌گرم خارج و بلافاصله در حمام یخ قرار گرفتند. میزان مالون دی‌آلدهید نمونه‌ها با

میزان کلروفیل a نسبت به شرایط عدم کاربرد گردید. در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، در پتانسیل‌های اسمزی برابر میزان این صفت در تنش خشکی نسبت به شرایط تنش شوری بیشتر بود (شکل ۲).

محتوای کلروفیل b: در شرایط عدم کاربرد سیلیکات کلسیم با افزایش سطوح تنش شوری میزان کلروفیل b کاهش پیدا کرد، اما بین سطوح شاهد و سطح ۲/۴- بار همچنین بین سطوح ۴/۹- بار و ۷/۴- بار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. اما در شرایط تنش خشکی با افزایش سطوح تنش این میزان افزایش پیدا کرد و بین سطوح خشکی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در مقایسه پتانسیل اسمزی برابر، در شرایط خشکی میزان کلروفیل b چند برابر بیشتر از شرایط شوری بود. در شرایط کاربرد سیلیکات کلسیم، در شرایط تنش شوری و خشکی میزان کلروفیل b کاهش یافت. در مقایسه پتانسیل اسمزی برابر، در شرایط تنش خشکی نسبت به شوری میزان b بیشتر بود. به‌طور کلی خشکی منجر به افزایش میزان کلروفیل b نسبت به شوری شده است (شکل ۳).

مجموع کلروفیل a و b: در شرایط عدم کاربرد سیلیکات کلسیم، با افزایش سطوح شوری میزان مجموع کلروفیل a و b کاهش معنی‌داری پیدا کرد. اما بین سطوح مختلف تنش خشکی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، هر چند میزان کلروفیل a و b در شرایط خشکی بیشتر از شوری بود. اضافه‌کردن سیلیکات کلسیم به محلول غذایی، میزان مجموع کلروفیل a و b را نسبت به شرایط عدم مصرف در تنش شوری تا حدی افزایش داد. اما کاهش مجموع کلروفیل در هر دو شرایط خشکی و شوری مشاهده شد. در سطوح پتانسیل‌های اسمزی برابر اثر کاهنده تنش شوری بر میزان این صفت از تنش خشکی بیشتر بود (شکل ۴).

افزایش فعالیت آنزیم تجزیه‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز)، عدم تعادل کمپلکس‌های رنگیزه - پروتئین، صرف نیتروژن در سنتز پروتئین و تخریب غشای کلروپلاستی (Khan et al., 2015) در تنش شوری (Noreen and Ashraf, 2009) و در تنش خشکی (Tambussi et al., 2000) باعث کاهش میزان

پتانسیل اسمزی در هر سطح سیلیکات کلسیم به روش L.S.Means صورت گرفت.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ: برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی بر محتوای نسبی آب برگ سیاهدانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، تنش شوری و خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب در گیاه شد. افزودن سیلیکات کلسیم به محلول غذایی تا حدودی سبب افزایش محتوای نسبی آب نسبت به شرایط عدم کاربرد سیلیکات کلسیم گردید. در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، در پتانسیل‌های اسمزی برابر، محتوای نسبی آب در تنش شوری از تنش خشکی بیشتر بود (شکل ۱).

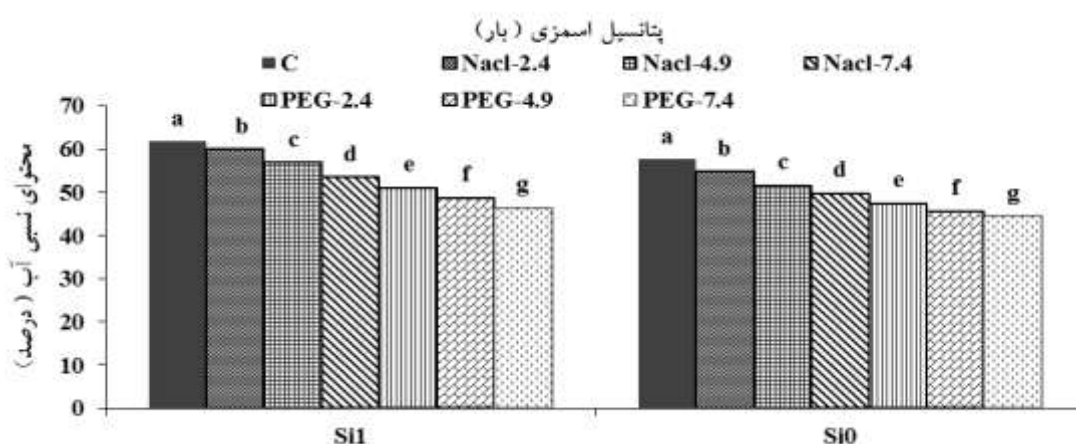
کاهش پتانسیل اسمزی محیط‌کشت موجب کاهش جذب آب و در نتیجه محتوای نسبی آب برگ می‌گردد. بین محتوای نسبی آب و میزان رطوبت بستر کشت رابطه مستقیم وجود دارد، به‌طوری‌که کاهش میزان آب بستر کشت و ایجاد تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی آب گیاه می‌شود (Khan et al., 2007). همچنین محتوای نسبی آب در شرایط شوری نسبت به خشکی با پتانسیل اسمزی برابر بیشتر است، زیرا گیاه با جذب نمک در محیط شور می‌تواند میزان جذب آب را افزایش دهد (Glenn and Brown, 1998). همان‌طور که در شکل ۱ مشخص است، سیلیسیم به مقدار خیلی جزئی در نگهداری آب سلول‌های برگ نقش بهبوددهنده بازی کرده است. گزارش شده است سیلیسیم با رسوب در دیواره خارجی سلول‌های اپیدرم برگ، میزان کاهش آب از طریق روزنه‌ها را پائین آورده و باعث افزایش محتوای آب نسبی برگ می‌شود (Kaya et al., 2006).

محتوای کلروفیل a: برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی بر کلروفیل a, b و کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، تنش شوری و خشکی سبب کاهش میزان کلروفیل a گردید. افزودن سیلیکات کلسیم به محلول غذایی نیز، سبب افزایش

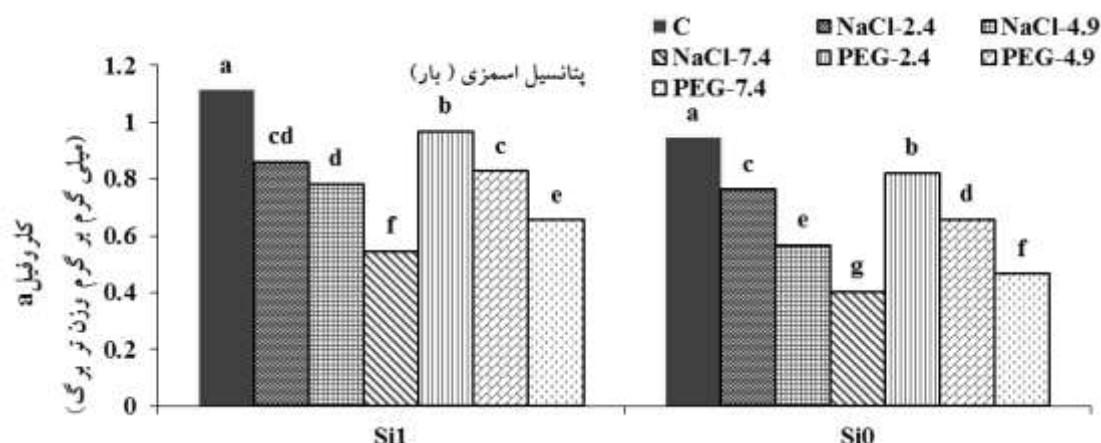
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر سطوح مختلف شوری، خشکی و سیلیکات کلسیم بر صفات فیزیولوژیک سیاهدانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای آب نسبی برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل b و a	محتوای پرولین	قندهای محلول کل	مالون دی آلدهید	فعالیت کاتالاز	فعالیت پراکسیداز
سیلیکات کلسیم (SI)	۱	۱۵۸/۵۴**	۲۰/۴۳**	۲/۶۰۲**	۸/۴۵۱**	۲/۴۴**	۹۲۷/۵۷**	۱۱۲/۷۲**	۱۱۱/۸۰**	۱۶۵**
پتانسیل اسمزی (OP)	۶	۱۶۵/۵۸**	۱۶/۳۵**	۹/۰۳۳**	۲۳/۹۶۶**	۱/۴۶**	۲۶۰/۸۰**	۶۰/۴۳**	۹۲/۱۰**	۲۹۳**
SI × OP	۶	۲/۰۲۴**	۰/۱۶۷**	۵/۰۴۸**	۴/۵۱۰**	۰/۰۲۴**	۱/۷۹**	۳/۵۷**	۳/۷۱**	۷/۶۷**
خطا	۲۸	۰/۲۹۴	۰/۳۸۲	۰/۰۷۵	۰/۰۸۳	۰/۰۰۲	۰/۲۵۴	۰/۰۷۴	۰/۵۵۲	۰/۰۰۱۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱/۰۳۸	۳/۰۴۰	۹/۲۳	۳/۰۷۹	۳/۸۲۱	۰/۷۹۰	۲/۰۵۵	۷/۸۲	۳/۱۱

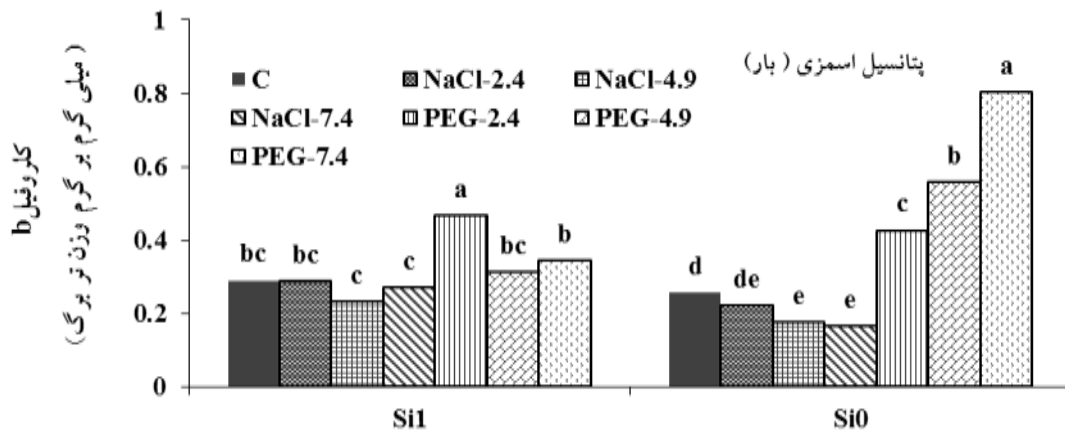
** معنی داری در سطح احتمال یک درصد را نشان می دهد.



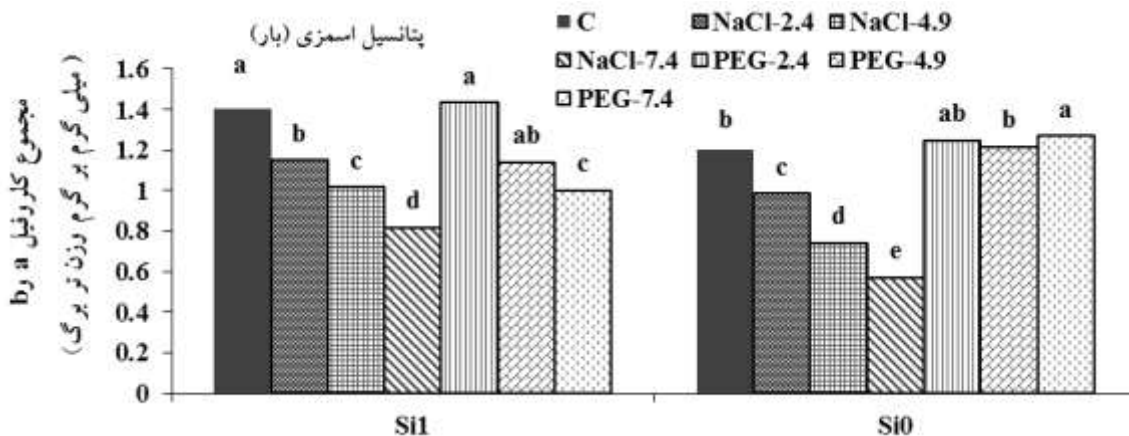
شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای محتوای نسبی آب. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی دار با رویه L.S.Meanes می باشد. Si_I: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای میزان کلروفیل a. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی دار با رویه L.S. Meanes می باشد. Si_I: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم



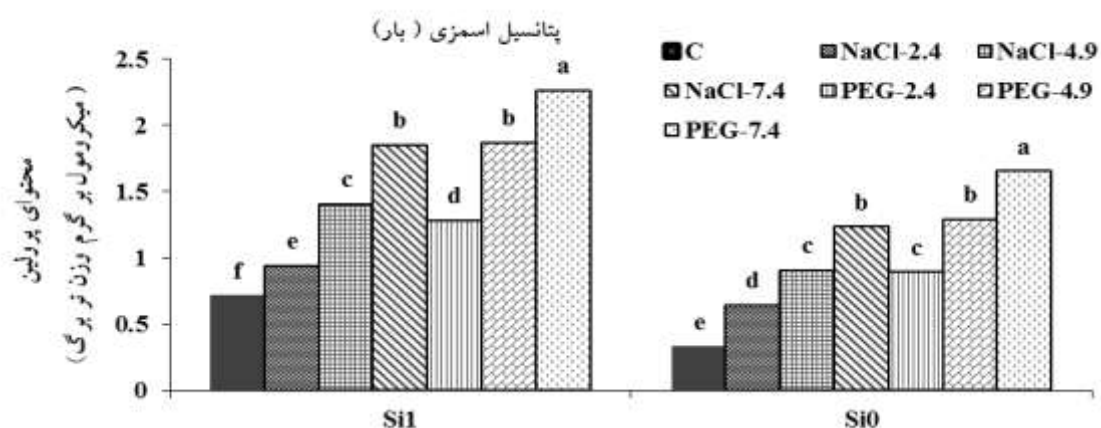
شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای میزان کلروفیل b. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S. Meanes می‌باشد. Si₁: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم



شکل ۴- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای مجموع کلروفیل a و b. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S. Meanes می‌باشد. Si₁: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم

کلروفیل کل و کارایی فتوسنتزی در گیاهان می‌شود که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد. در شرایط تنش شوری سیلیکون ممکن است باعث جلوگیری از کاهش سطح رنگدانه‌ها و تغییر کارایی فتوسنتز شود (Al-Huqail et al., 2017). همچنین سیلیکون احتمالاً توانسته است در شرایط تنش با بیان برخی از ژن‌های وابسته به فتوسنتز مانند ژن واسطه‌های انتقال الکترون (پلاستوکینون، پلاستوسیانین و فریدوکسین) باعث افزایش سرعت حمل‌ونقل الکترونی و افزایش ثبات در غشای تیلاکوئید و کمپلکس اصلی رنگدانه

کلروفیل شود (Zhang et al., 2018; Wang et al., 2019). البته قابل ذکر است که سیلیکون با تنظیم مجدد سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه از تخریب غشاهای کلروپلاستی نیز جلوگیری می‌کند (Murillo-Amador et al., 2007) که در این تحقیق روند افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (شکل ۷ و ۸) با کاربرد سیلیکون نیز مشاهده شد؛ همچنین افزایش مقدار پرولین به‌عنوان یک اسمولیت (شکل ۵) با کاربرد سیلیکون در جلوگیری از تخریب سامانه فتوسنتزی حائز اهمیت است. صدمه شوری به صفت کلروفیل بیشتر از خشکی بود. با توجه



شکل ۵- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی بر پرولین. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S.Meanes می‌باشد. Si₁: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم

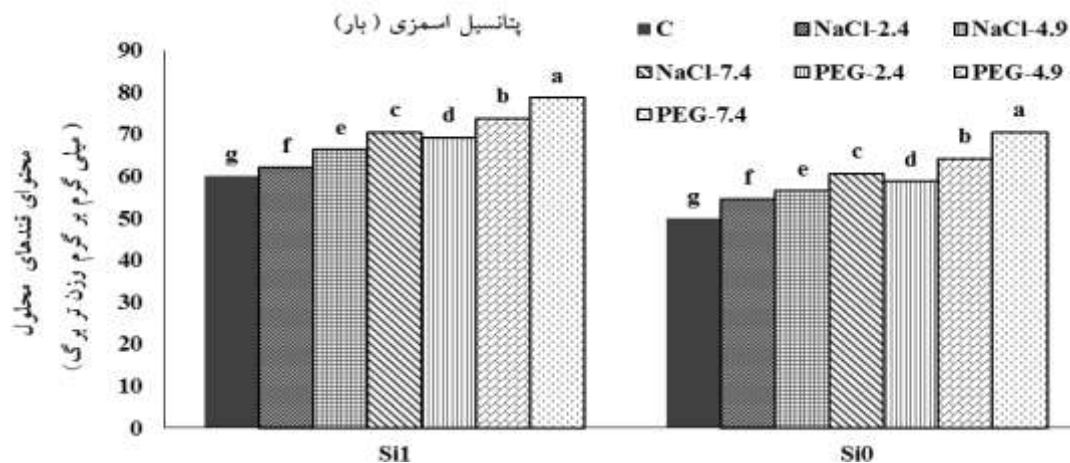
خشکی شد (شکل ۶).

پرولین با استوارساختن ساختار سه بعدی پروتئین‌ها، محافظت از سامانه فتوسنتزی و غشای سلولی، تنظیم اسمزی و جاروبرگری گونه‌های فعال اکسیژن (Ashraf and Foolad, 2007) باعث بهبود شرایط گیاه در مقابله با تنش‌های شوری و خشکی می‌گردد. قندهای محلول به‌عنوان اسمولیت، شیب جریان آب به سلول را افزایش داده و از طریق تنظیم محتوای آب، تورژسانس سلول‌ها را حفظ می‌کند (Ebrahimian and Bybord, 2012). افزایش پرولین و قند محلول در سیاه دانه تحت تنش خشکی دیده شده است (Rezaei-Chiyaneh et al., 2018). کمتر بودن محتوای نسبی آب برگ در شرایط خشکی نسبت به شوری (شکل ۱) می‌تواند دلیل افزایش بیشتر پرولین و قند محلول کل برگ در شرایط خشکی نسبت به شوری با پتانسیل اسمزی برابر باشد؛ که اهمیت این اسمولیت را در تنظیم اسمزی مشخص می‌نماید. از طرفی به‌نظر می‌رسد سیلیسیم با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، سطح برگ، تعداد برگ، فعالیت آنزیم رویسکو و ظرفیت فتوسنتزی، کاهش تنش اکسیداتیو و حفاظت ماکرومولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، غشای کلروپلاستی و غشای سلولی باعث افزایش فتوسنتز شده و به تبع آن میزان قندهای محلول در گیاه را افزایش داده است (Savvas and Ntatsi, 2015) و این روند هم‌افزایی در

به محتوای نسبی آب (شکل ۱) بالاتر در شرایط شوری، می‌توان این اثر را به سمیت یونی حاصل از یون‌های سدیم و کلر نسبت داد. در شرایط عدم مصرف سیلیکون سطوح تنش خشکی منجر به افزایش شدید کلروفیل b شده است که با نتایج سایر محققین (Mafakheri et al., 2010) تفاوت دارد و همین امر در مجموع کلروفیل a و b هم خود را نشان داده است.

میزان پرولین و قندهای محلول برگ: برهمکنش سیلیکات

کلسیم و پتانسیل اسمزی بر محتوای پرولین و قند محلول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر دو سطح سیلیکات کلسیم تنش شوری و خشکی سبب افزایش محتوای پرولین گردید. اضافه‌کردن سیلیکات کلسیم به محلول غذایی نیز سبب افزایش محتوای پرولین در شرایط شوری و خشکی شد. در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، در سطوح پتانسیل اسمزی برابر اثر افزایش تنش خشکی بر میزان پرولین از تنش شوری بیشتر بود (شکل ۵). در هر دو سطح سیلیکات کلسیم تنش شوری و خشکی سبب افزایش میزان قندهای محلول برگ گردید. در هر دو سطح سیلیکات کلسیم در سطوح با پتانسیل اسمزی برابر اثر افزایش تنش خشکی بر میزان قندهای محلول برگ بیشتر از تنش شوری بود. کاربرد سیلیکات کلسیم سبب افزایش میزان قندهای محلول برگ نسبت به عدم کاربرد سیلیکات کلسیم در تنش شوری و



شکل ۶- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای میزان قند محلول. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S. Meanes می‌باشد. Si₁: با کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم.

بیشتر از تنش شوری افزایش داد؛ اما در شرایط عدم کاربرد سیلیکات این تفاوت کمتر دیده شد. کاربرد سیلیکات کلسیم سبب افزایش میزان آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط عدم کاربرد سیلیکات کلسیم شد. برای شرایط بدون کاربرد سیلیکات کلسیم نتایج در هر دو تنش مشابه بود (شکل ۷).

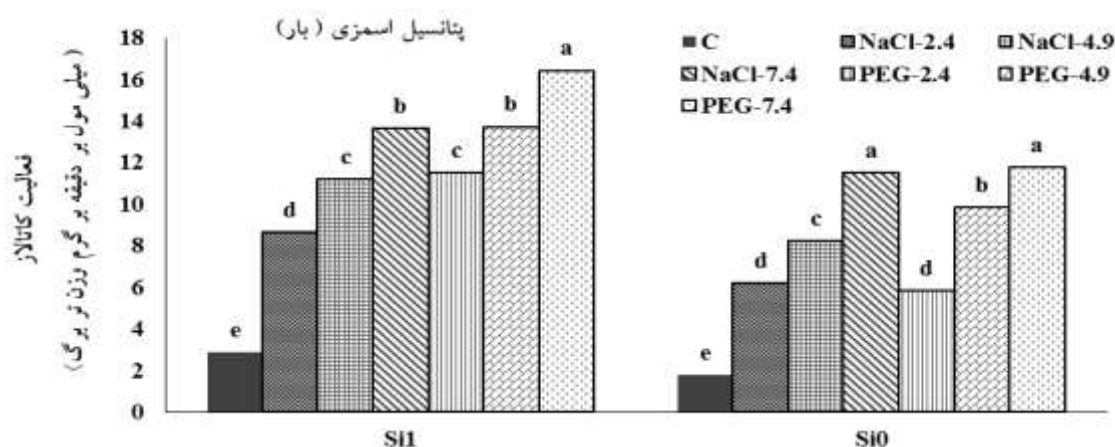
در هر دو سطح سیلیکات کلسیم تنش شوری و خشکی سبب افزایش میزان آنزیم پراکسیداز گردید. اضافه کردن سیلیکات کلسیم به محلول غذایی سبب افزایش میزان پراکسیداز گردید. با کاربرد سیلیکات کلسیم در سطوح پتانسیل‌های اسمزی برابر ۲/۴- و ۷/۴- بار اثر افزایش تنش شوری بر میزان آنزیم پراکسیداز بیشتر از تنش خشکی بود (شکل ۸).

میزان مالون دی‌آلدهید: برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی بر میزان مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر دو سطح سیلیکات کلسیم تنش شوری و خشکی سبب افزایش میزان مالون دی‌آلدهید گردید. با اضافه کردن سیلیکات کلسیم تنش شوری و خشکی میزان مالون دی‌آلدهید نسبت به شرایط عدم کاربرد سیلیکات کلسیم کاهش پیدا کرد. در هر دو سطح سیلیکات کلسیم با پتانسیل اسمزی مشابه میزان مالون دی‌آلدهید در تنش خشکی از تنش شوری بیشتر بود (شکل ۹).

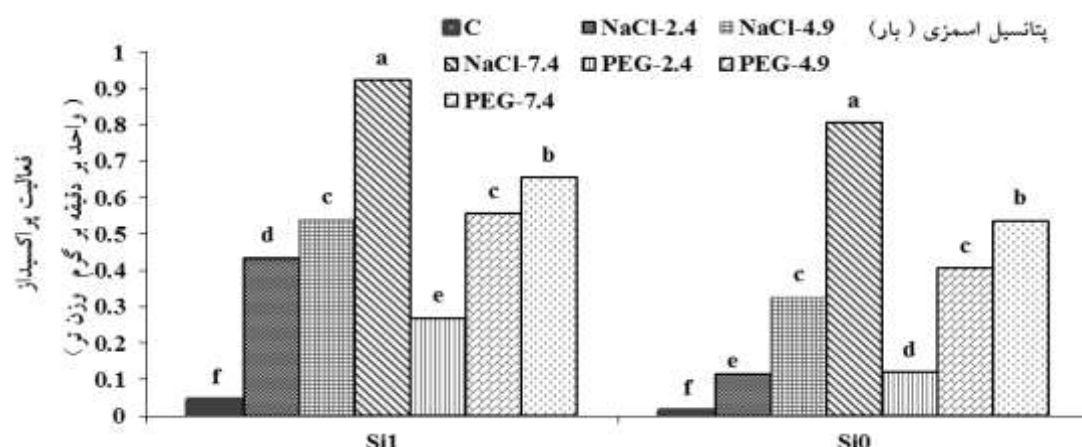
از جمله دلایلی که تنش‌های محیطی مانند شوری و

پژوهش ما نیز دیده شده است. از طرفی سیلیسیم از طریق افزایش محتوای آب نسبی برگ و جذب نیتروژن و در نتیجه تأمین کربن مورد نیاز برای ساخت پرولین، باعث افزایش میزان پرولین گیاه می‌شود (Marschner, 1995). همچنین ممکن است افزایش و تجمع پرولین با کاربرد سیلیکون به دلیل افزایش سنتز آن یا کاهش تخریب باشد. سیلیکون می‌تواند با تجمع فعال قندهای محلول و اسیدهای آمینه، جذب آب ریشه را تحت تنش خشکی بهبود بخشد (Sonobe et al., 2010). افزایش میزان پرولین با کاربرد سیلیکون در تنش خشکی در گندم (طالع احمد و حداد، ۱۳۸۹) و در تنش شوری در گاوزبان (سعادت‌مند و انتشاری، ۱۳۹۱) گزارش شده است. همچنین کاربرد سیلیکون تحت تنش شوری باعث افزایش محتوای قند محلول در برگ و ریشه گیاهان تنباکو شد (Hajiboland and cheraghvareh, 2014) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: برهمکنش پتانسیل اسمزی و سیلیکات کلسیم بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سیاهدانه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در هر دو سطح سیلیکات کلسیم، تنش شوری و خشکی سبب افزایش میزان آنزیم کاتالاز گردید. در شرایط کاربرد سیلیکات کلسیم در پتانسیل‌های اسمزی برابر، تنش خشکی میزان آنزیم کاتالاز را



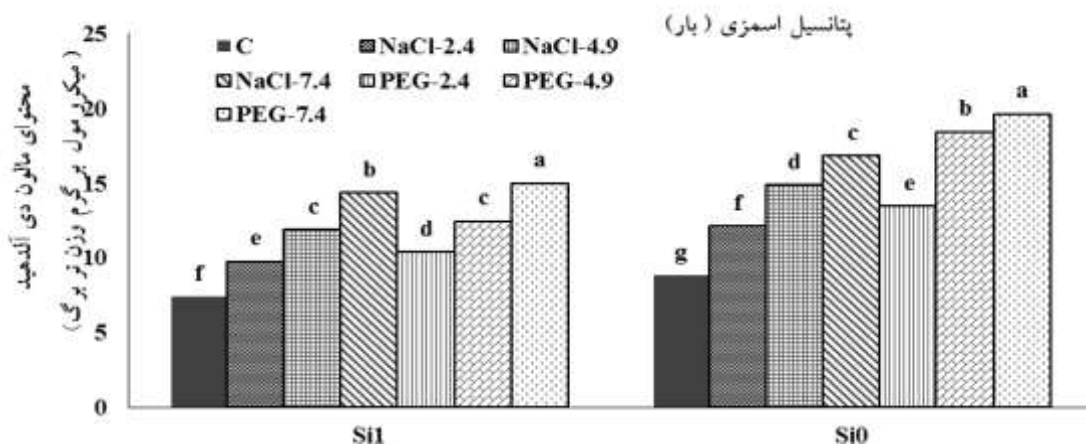
شکل ۷- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای فعالیت آنزیم کاتالاز. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S. Meanes می‌باشد. Si₁: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم



شکل ۸- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S. Meanes می‌باشد. Si₁: کاربرد سیلیکات کلسیم، Si₀: عدم کاربرد سیلیکات کلسیم.

متناوب غشا و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (Upchurch, 2008). کاتالاز و پراکسیداز در تبدیل H₂O₂ به آب و مولکول اکسیژن و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش دارند. بیشتر بودن فعالیت کاتالاز در شرایط خشکی نسبت به شوری را می‌توان یک صدمه شدیدتر خشکی به گیاه مربوط دانست که در کاهش محتوای نسبی آب بیشتر قبلاً به آن اشاره شده است. آن‌طور که نتایج نشان می‌دهد فعالیت پراکسیداز در برخی سطوح شوری نسبت به خشکی در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد سیلیکات

خشکی رشد و توانایی فتوسنتز گیاهان را کاهش می‌دهند، اختلال در تعادل بین تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو است. گیاهان برای مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند کاتالاز و پراکسیداز) و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (Bharti et al., 2019). فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در سیاه دانه تحت تنش شوری و خشکی گزارش شده است (احمدپور دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۲) که مشابه نتایج این پژوهش بود. پایدارترین گونه اکسیژن فعال، H₂O₂ از طریق نفوذپذیری



شکل ۹- مقایسه میانگین برهمکنش سیلیکات کلسیم و پتانسیل اسمزی برای محتوای مالون دی آلدئید. در هر سطح سیلیکات کلسیم، ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار با رویه L.S. Meanes می‌باشد. Si_1 : کاربرد سیلیکات کلسیم، Si_0 : عدم کاربرد سیلیکات کلسیم

(*Borago officinalis* L.) و گل گاوزبان اروپایی (et al., 2017) تحت تنش شوری (Torabi et al., 2015) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

تنش شوری و خشکی به شدت صفات فیزیولوژیکی سیاهدانه را تحت تأثیر قرار دادند. در هر دو سطح سیلیکات کلسیم تنش شوری و خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب، میزان کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، میزان پرولین و قند محلول و میزان مالون دی‌آلدئید برگ گردید. کاربرد سیلیکات کلسیم موجب تخفیف اثر تنش‌های شوری و خشکی شد، به طوری که افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، میزان کلروفیل، میزان پرولین و قندهای محلول و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید را در پی داشت. در شرایط خشکی نسبت به شوری با پتانسیل اسمزی برابر محتوای آب نسبی کمتر، ولی محتوای پرولین، قندهای محلول، میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر بود که نشان می‌دهد حساسیت سیاهدانه از نظر صفات فیزیولوژیک به خشکی بیشتر از شوری است.

بیشتر بوده است؛ که نشان می‌دهد سیاهدانه در شرایط شوری و خشکی از آنزیم‌های متفاوتی بهره می‌برد. مطالعات صورت گرفته نشان داده‌اند که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در حضور سیلکون در گیاه افزایش یافته و با کاهش محتوای H_2O_2 و رادیکال‌های آزاد از تخریب سلول‌های گیاهی در برابر حمله گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند (Shen et al., 2010). این اثرات هماهنگ بین اسمولیت‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، تا حدی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شود. در نتیجه این عمل باعث کاهش محتوای MDA که حاصل پراکسیده شدن فسفولیپیدهای موجود در غشا است، می‌گردد. در این پژوهش سیلیکون با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش MDA (جلوگیری از پراکسیدایون فسفولیپید) در شرایط تنش می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پروکسیداز و کاتالاز و کاهش میزان MDA توسط سیلیکون تحت تنش در گونه‌ای از شیرین بیان (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) تحت تنش شوری و خشکی (Zhang et al., 2018) و نهال آکاسیا (*Acacia gerrardii* Benth.) تحت تنش شوری (Al-Huqail)

منابع

احمدپور دهکردی، س. و بلوچی، ح. (۱۳۹۲) اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول

گیاهچه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی. مجله تولید گیاهان زراعی ۵: ۸۵-۶۳.

پورقاسیمان، ن. و احسانزاده، پ. (۱۳۹۲) بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداتیو به آلودگی کادمیومی خاک و ارتباط آن با برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در ژنوتیپ‌های گلرنگ. فرآیند و کارکرد گیاهی ۲: ۳۱-۱۵.

عادتمند، م. و انتشاری، ش. (۱۳۹۱) اثر طول زمان پیش‌تیمار با سیلیکون بر تحمل شوری در گاوزبان ایرانی. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۱۲: ۵۶-۴۵.

شعاع، م. و میری، ح. ر. (۱۳۹۰) کاهش اثرات سو تنش شوری بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گندم از طریق کاربرد اسید سالیسیلیک. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۵: ۸۸-۷۱.

طالع احمد، س. و حداد، ر. (۱۳۸۹) اثر سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند و محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی در دو ژنوتیپ گندم نان در شرایط تنش خشکی. به‌زراعی نها و بذر ۲: ۲۲۵-۲۰۷.

قربانلی، م. ل.، ادیب هاشمی، ن. و پیوندی، م. (۱۳۸۸) بررسی اثر شوری و اسید آسکوربیک بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک در گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.). فصلنامه علمی- پژوهشی گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۶: ۳۸۸-۳۷۰.

کافی، م.، مهدوی دامغانی، ع. م.، کامکار، ب. و جامی‌الاحمدی، م. (۱۳۹۵). فیزیولوژی و نمو گیاهی. جلد اول. ترجمه. جهاد دانشگاهی مشهد.

کبیری، ر.، نصیبی، ف. و فرح‌بخشی، ح. (۱۳۹۲) مطالعه برخی پارامترهای اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه سیاهدانه در شرایط کشت هیدروپونیک. فرآیند و کارکرد گیاهی ۲: ۱۹-۱۱.

کریمی، س.، ارزانی، ا. و سعیدی، ق. ا. (۱۳۹۴) تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوای کلروفیل برگ در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری گلرنگ. فرآیند و کارکرد گیاهی ۴: ۳۵-۲۵.

- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Method in Enzymology* 105: 121-126.
- Al-Huqail, A. A., Alqarawi, A. A., Hashem, A., Malik, J. A. and Abd-Allah, E. F. (2017) Silicon supplementation modulates antioxidant system and osmolyte accumulation to balance salt stress in *Acacia gerrardii* Benth. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26: 1856-1864.
- Arnon, D. E. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- Bharti, A. and Garg, N. (2019) SA and AM symbiosis modulate antioxidant defense mechanisms and Asada pathway in chickpea genotypes under salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 178: 66-78.
- D'Antuono, L. F., Moretti, A. and Lovato, A. F. (2002) Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Industrial Crops and Products* 15: 59-69.
- Ebrahimian, E. and Bybord, A. (2012) Effect of salinity, salicylic acid, silicium and ascorbic acid on lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity and fatty acid content of sunflower. *African Journal of Agricultural Research* 7: 3685-3694.
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002) Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cell. *Soil Science and Plant Nutrition* 48: 357-364.
- Glenn, E. P. and Brown, J. J. (1998) Effects of soil salt levels on the growth and water use efficiency of *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) varieties in drying soil. *American Journal of Botany* 85: 10-16.
- Hajiboland, R. and Cheraghvareh, L. (2014) Influence of Si supplementation on growth and some physiological and biochemical parameters in salt-stressed tobacco (*Nicotiana rustica* L.) plants. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran* 25: 205-217.
- Hajiboland, R., Cheraghvareh, L. and Dashtebani, F. (2017) Effects of silicon supplementation on wheat plants under salt stress. *Journal of Plant Process and Function* 5: 1-11.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Effect of light on lipid peroxidation in chloroplasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 19: 716-720.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced change in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa*) plant. *Physiologia Planarum* 84: 55-60.
- Kaya, M. D., Okci, G., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. (2006) Seed treatment to overcome salt and drought

- strees during germination in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy* 24: 291-295.
- Khan, H. U., Link, W., Hocking, T. and Stoddard, F. (2007) Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant and Soil* 292: 205-217.
- Khan, M. S. A., Karim, M. A., Abullah, A. M., Parveen, S., Bazzaz, M. M. and Hossain, M. A. (2015) Plant water relations and proline accumulations in soybean under salt and water stress environment. *Journal of Plant Sciences* 3: 272-278.
- Kim, Y. H., Khan, A. L., Waqas, M. and Lee, I. J. (2017) Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: A review. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-7.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. C. and Sohrabi, Y. (2010) Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science* 4: 580-585.
- Marschner, H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, New York.
- Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* 51: 914-916.
- Murillo-Amador, B., Yamada, S., Yamaguchi, T., Rueda-Puente, E., Avila-Serrano, N., Garcia-Hernandez, J. L. and Nieto-Garibay, A. (2007) Influence of calcium silicate on growth, physiological parameters and mineral nutrition in two legume species under salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 193: 413-421.
- Noreen, Z. and Ashraf, M. (2009) Changes in antioxidant enzymes and some key metabolites in some genetically diverse cultivars of radish (*Raphanus sativus* L.). *Environmental and Experimental Botany* 67: 395-402.
- Paquin, R. and Le chasseur, P. (1979) Observation sur une méthode dosage Labrie dans les plantes. *Canadian Journal of Botany* 57: 1851-1854.
- Pilon-Smits, E. A., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M. and Schiavon, M. (2009) Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 267-274.
- Qureshi, M. I., Abdin, M. Z., Ahmad, J. and Iqbal, M. (2013) Effect of long-term salinity on cellular antioxidants, compatible solute and fatty acid profile of Sweet Annie (*Artemisia annua* L.). *Phytochemistry* 95: 215-223.
- Ramadan, M. F. and Morsel, J. T. (2002) Characterization of phospholipids composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. *Food/Nahrung* 46: 240-244.
- Rezaei-Chiyaneh, E., Seyyedi, S. M., Ebrahimian, E., Moghaddam, S. S. and Damalas, C. A. (2018) Exogenous application of gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates the effect of water deficit stress in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Industrial Crops and Products* 112: 741-748.
- Savvas, D. and Ntatsi, G. (2015) Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Scientia Horticulturae* 196: 66-81.
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A. E. and Li, J. (2010) Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean antioxidative systems in two cottons. *General and Applied Plant Physiology* 33: 221-234.
- Sonobe, K., Hattori, T., An, P., Tsuji, W., Eneji, A. E., Kobayashi, S. and Inanaga, S. (2010) Effect of silicon application on sorghum root responses to water stress. *Journal of Plant Nutrition* 34: 71-82.
- Tambussi, E. A., Bartoli, C. G., Bettran, J., Guiamet, J. J. and Araus, J. C. (2000) Oxidative damage to thylakoids proteins in water stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 108: 398-404.
- Torabi, F., Majd, A. and Enteshari, S. (2015) The effect of silicon on alleviation of salt stress in borage (*Borago officinalis* L.). *Soil Science and Plant Nutrition* 61: 788-798.
- Upchurch, R. G. (2008) Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnology Letters* 30: 967-977.
- Wang, Y., Zhang, B., Jiang, D. and Chen, G. (2019) Silicon improves photosynthetic performance by optimizing thylakoid membrane protein components in rice under drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 158: 117-124.
- Weatherley, P. E. (1950) Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* 49: 81-97.
- Yin, L., Wang, S., Li, J., Tanaka, K. and Oka, M., (2013) Application of silicon improves salt tolerance through ameliorating osmotic and ionic stresses in the seedling of *Sorghum bicolor*. *Acta Physiologia Plantarum* 35: 3099-3107.
- Zhang, W., Yu, X., Li, M., Lang, D., Zhang, X. and Xie, Z. (2018) Silicon promotes growth and root yield of *Glycyrrhiza uralensis* under salt and drought stresses through enhancing osmotic adjustment and regulating antioxidant metabolism. *Crop Protection* 107: 1-11.
- Zhu, J. K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53: 247-273.
- Zhu, Y. and Gong, H. (2014) Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. *Agronomy for Sustainable Development* 34: 455-472.
- Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q. and Yu, J. (2004) Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Plant Science* 167: 527-533.

Physiological responses of black cumin (*Nigella sativa* L.) to calcium silicate under drought and salinity stresses with iso-osmotic potential

Vahideh Rahmani, Mohsen Movahhedi Dehnavi*, Alireza Yadavi, Hamidreza Balouchi and Mohammad Hamidian

Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Received: 05/09/2019, Accepted: 14/07/2020)

Abstract

To investigate physiological responses of black cumin to calcium silicate under salinity and drought stress condition with iso-osmotic potentials, a factorial experiment was carried out based on the completely randomized design with three replications in research greenhouse of Faculty of Agriculture, Yasouj University, Iran in 2018. The first factor included seven levels (salinity and drought stresses with iso-osmotic potentials of -2.4, -4.9 and -7.4 bar and control treatment) applied in Hoagland's solution. Salinity was applied with sodium chloride (NaCl) and drought with polyethylene glycol 6000 (PEG 6000). The results showed that at calcium silicate levels, salinity and drought stresses increased catalase and peroxidase activity, proline soluble sugars and malondialdehyde whereas they decreased leaf relative water content and leaf chlorophyll content. Silicate application mitigated the stress effects so that it increased catalase and peroxidase activity, chlorophyll, proline and soluble sugars and decreased malondialdehyde content. In iso-osmotic potentials of drought compared with salinity, relative water content decreased but proline content, soluble sugars content, malondialdehyde content and catalase activity increased, indicating that black cumin sensitivity to drought was higher than salinity based on physiological traits.

Keywords: Antioxidant enzymes, Calcium silicate, Drought, Medicinal plant, Salinity

Corresponding author, Email: Movahhedi1354@yu.ac.ir