

مطالعه برهم‌کنش سیلیکون و شوری بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و تشریحی گیاه گاوزبان دارویی (*Borago officinalis* L.)

فیروزه ترابی^۱، احمد مجد^{۱و۲} و شکوفه انتشاری^{۳*}

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران-شمال و ^۳ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۱۹۳۹۵-۴۶۹۷، تهران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۳۰)

چکیده:

امروزه گیاهان دارویی از گیاهان مهم اقتصادی هستند. با توجه به روند افزایشی توسعه اراضی شور و کمبود اراضی زراعی مطلوب برای کشاورزی، شناسایی گیاهان دارویی مقاوم به شوری اهمیت زیادی دارد. انتخاب گیاهان مقاوم به شوری از طریق کشت در محیط هیدروپونیک روشی کم‌هزینه و مطمئن جهت صرفه‌جویی در زمان محسوب می‌شود. سیلیکون دومین عنصر رایج موجود در خاک است که دارای اثرات مفیدی در افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان است. به منظور بررسی برهم‌کنش شوری و سیلیکون بر خصوصیات فیزیولوژیکی و تشریحی گیاه گاوزبان، آزمایشی در یک طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور سیلیکون در شش سطح (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ میلی‌مولار) و شوری در دو سطح (۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) در ۴ تکرار انجام شد. در این مطالعه تأثیر شوری و سیلیکون بر ساختار مریستم رأس ساقه و محتوای کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و قندهای احیا کننده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که شوری باعث کاهش محتوای کلروفیل، کاروتنوئید، ترکیبات فنلی، قندهای احیا کننده و افزایش میزان آنتوسیانین شد. در حالی که در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت تیمار شوری بودند، تیمار سیلیکون و به‌ویژه غلظت ۱/۵ میلی‌مولار باعث افزایش شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی در این مطالعه شد. همچنین سیلیکون توانست که اثرات منفی تیمار شوری بر ساختار مریستم رأس ساقه را تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: سیلیکون، شوری، گاوزبان دارویی (*Borago officinalis* L.)، مریستم.

دارویی (*Borago officinalis* L.) گیاهی از خانواده

بورازیناسه بوده و گیاهی علفی، یکساله است. این گیاه در سراسر دنیا و از جمله ایران کشت می‌شود. این گیاه حاوی مواد موسیلاژی، تانن و ترکیبات فنلی و نیز مقدار کمی آلکالوئید است به طوری که به عنوان یکی از منابع اصلی اسیدهای چرب به شمار می‌رود و از آن به عنوان غنی‌ترین

مقدمه:

رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی در صنایع دارویی - آرایشی، بهداشتی و غذایی و به دنبال آن توجه مردم و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر نیاز مبرم به تحقیقات پایه‌ای و کاربردی وسیعی را در این زمینه نمایان می‌سازد. گاوزبان

(Ahmed *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011; Ma and Yamaji, 2008).

تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه تأثیر تنش شوری بر گیاهان صورت گرفته، ولی بررسی اثر سیلیکون بر گیاهان موضوع جدید دو دهه اخیر می‌باشد. در بررسی انجام شده بر روی گیاه جو، افزایش جذب و انتقال K^+ و کاهش جذب و انتقال Na^+ از ریشه به بخش هوایی در شرایط شوری، به افزایش فعالیت H^+ -ATPase غشای پلاسمایی توسط سیلیکون نسبت داده شد (Liang *et al.*, 2006). Lee و همکاران (۲۰۱۰) برهم‌کنش سیلیکات سدیم و شوری بر گیاه سویا را مورد بررسی قرار دادند. سیلیکون باعث بهبود فتوسنتز و افزایش محتوای کلروفیل در شرایط شوری گردید. Samuels و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند که افزایش رشد و عملکرد گیاه در حضور سیلیکون از طریق بهبود توانایی مکانیکی ساقه و برگ‌ها در جذب نور و افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه می‌باشد. در کل با توجه به اهمیت کشت گیاهان در شرایط بدون خاک، لذا لزوم پژوهشی کاربردی در زمینه اثر متقابل سیلیکون و شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیک و تشریحی گیاه گاوزبان دارویی ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها:

بذرهای گیاه گاوزبان دارویی (*Borago officinalis* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. آزمایشات این تحقیق در شرایط کشت گلخانه انجام شد. ابتدا بذر را توسط قارچ کش بنومیل ضدعفونی شده و برای جوانه‌زنی به ظرف ماسه انتقال داده شدند. پس از جوانه زدن، تغذیه بوته‌ها تا مرحله دو برگگی به وسیله آب مقطر و محلول پایه لانگشتاین یک دوم به صورت متناوب انجام گرفت. بعد از رشد دومین برگ، گیاهچه‌ها به ظروف پلاستیکی ۱/۵ لیتری حاوی محلول غذایی پایه لانگشتاین تغییر یافته (Hewitt, 1966) که غلظت عناصر پرمصرف بر حسب میلی‌مولار H_2PO_4 ، ۰/۲؛ $Ca(NO_3)_2$ ، ۲/۵؛ $CaCl_2$ ، ۵؛ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۶؛ K_2SO_4 ، ۱؛ و عناصر کم‌مصرف بر

منبع شناخته شده برای گاما لینولئیک‌اسید یاد می‌شود. گاما لینولئیک‌اسید یکی از اسیدهای چرب نادر در گیاهان است که عموماً به عنوان مکمل‌های غذایی و دارویی برای درمان بیماری‌های قلبی، دیابت و ورم مفاصل و بسیاری از بیماری‌های دیگر استفاده می‌شود (نقدی‌بادی و همکاران، ۱۳۸۶).

رشد و نمو گیاه جزء فرآیندهای داخلی است که تحت کنترل شرایط محیطی است. شوری از جمله تنش‌های محیطی است که رشد و تولید گیاهان را در سرتاسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. این مشکل در مناطق خشک و نیمه‌خشک شدیدتر است. افزایش شوری باعث تغییرات خاص در سطح سلول، بافت و اندام است (Munns, 2002).

شناخت واکنش‌های گیاهان به شوری از اهمیت خاصی برخوردار است. سازوکارهای افزایش تحمل به شوری در گیاهان مختلف موجب تغییراتی در شاخص‌های مورفولوژیکی، تشریحی و فیزیولوژیکی می‌گردد که تحت تأثیر گونه گیاهی، مرحله رشد و عوامل خارجی از قبیل خاک، نوع نمک و شرایط آب هوایی (رطوبت و دما) قرار دارد. یکی از راهکارهای کاهش اثرات تنش شوری در گیاهان استفاده از سیلیکون می‌باشد (Hashemi *et al.*, 2010).

سیلیکون ۲۷/۶ درصد پوسته زمین را تشکیل می‌دهد. در محلول خاک سیلیکون به صورت سیلیس حل شده مونوسیلیسیک‌اسید (H_4SiO_4) وجود دارد و با همین فرم توسط گیاهان جذب می‌شود. تا به امروزه سیلیسیوم به عنوان عنصر ضروری برای رشد گیاه تشخیص داده نشده است ولی اثرات مفید این عنصر بر رشد، نمو، عملکرد و مقاومت در برابر بیماری‌ها در گونه‌های متنوعی از گیاهان مشاهده شده است (Ma and Yamaji, 2006). اثرات این عنصر در شرایط تنش‌زا بیشتر به چشم می‌خورد، زیرا سیلیکون توانایی آن را دارد که گیاهان را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی چندگانه محفوظ نگه دارد. سیلیکون تنش‌های غیرزیستی شامل تنش‌های شیمیایی (نمک، سمیت فلزات، عدم تعادل غذایی) و تنش‌های فیزیکی (بارگیری، خشکی، دمای بالا، فریز، اشعه ماوراء بنفش و رادیواکتیو) و تنش‌های دیگر را کاهش می‌دهد

مدل Spector Flex 6600 خوانده شد. غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$\begin{aligned} \text{Chl.a(mg/gFW)} &= 12.5 A_{663} - 2.79 A_{645} \\ \text{Chl.b(mg/gFW)} &= 21.51 A_{645} - 5.1 A_{663} \\ \text{Chl.Total(mg/gFW)} &= \text{Chl.a} + \text{Chl.b} \\ \text{Car(mg/gFW)} &= (1000A_{470} - 1.8 \text{ Chl.a} - 85.02 \\ &\text{Chl.b})/198 \end{aligned}$$

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی: جهت اندازه‌گیری

ترکیبات فنلی تام از معرف Folin-Ciocalteu استفاده شد (Sonald and Lalma, 1999). ۰/۱ گرم از بافت گیاهی در ۱ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده گیاهی و رقت‌های مختلف استاندارد گالیک‌اسید اضافه و سپس به مخلوط حاصل ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد. پس از یک ساعت نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV visible مدل Spector Flex 6600 خوانده شد. نتایج به صورت میلی‌گرم هم‌ارز گالیک‌اسید بر گرم وزن تر گزارش شد.

سنجش میزان آنتوسیانین: از روش (Wanger, 1979)

جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های اندام هوایی استفاده شد. دیسک‌های برگ‌گی تهیه شده از گیاه را در هاون چینی با مقداری متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک‌اسید خالص به نسبت حجمی ۱ : ۹۹) کاملاً سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV visible مدل Spector Flex 6600 اندازه‌گیری گردید. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول $A = \epsilon bc$ به دست آمد که در آن مقدار ϵ یا ضریب خاموشی معادل ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول، A مقدار جذب، b عرض کووت اندازه‌گیری برابر با یک

حسب میکرومولار H_3BO_3 ، ۱؛ FeEDTA، ۲۰۰؛ $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ، ۲؛ $ZnSO_4$ ، ۰/۵؛ $CuSO_4$ ، ۰/۳؛ Na_2MoO_4 ، ۰/۰۰۵؛ بود، منتقل شدند. pH محلول غذایی بین ۶/۵ تا ۷ تنظیم گردید. پس از طی مدت ۱۰ روز و رشد گیاهان تا مرحله ۴ برگگی، تیمار شوری و سیلیکون اعمال گردید. تحقیق حاضر با استفاده از تیمار سیلیکون Na_2SiO_3 -Sigma درشش سطح ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌مولار و تیمار شوری (NaCl) در دو سطح ۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار با چهار تکرار و تعداد ۲ بوته در هر تکرار انجام شد. هوادهی ظروف کشت به صورت روزانه صورت گرفت و در طول مدت کشت هر هفته محلول غذایی تعویض شد. در مجموع گیاهان به مدت ۳۵ روز در محلول غذایی و تیمار باقی ماندند. میانگین درجه حرارت محیط گلخانه در طی دوره آزمایش در شب 21 ± 3 و در روز 24 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵٪ بود.

مطالعات میکروسکوپ نوری: نمونه‌برداری از مریستم

رأس ساقه گیاهان شاهد و تحت تیمار شوری و سیلیکون انجام شد. تثبیت نمونه‌ها برای انجام برش‌های میکروتومی با فیکساتور FAA (فرمالدهید، استیک‌اسید، الکل اتیلیک ۷۰٪ با نسبت ۵:۵:۹۰) به مدت ۱۴-۱۲ ساعت انجام شد، آماده‌سازی نمونه‌ها با روش‌های متداول یاخته-بافت شناسی انجام گرفته و پس از برش‌گیری از نمونه‌ها، رنگ آمیزی آنها با هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت (Yeung, 1984)، در نهایت بررسی‌های میکروسکوپی و عکس‌برداری از نمونه‌ها به عمل آمد.

اندازه‌گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئید: برای

سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. براساس این روش ۰/۱ گرم بافت برگ ساییده شده توسط ازت مایع با ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد مخلوط و به خوبی همگن شد. سپس محلول حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس حجم محلول با استون به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و شدت جذب آن در طول موج‌های ۶۴۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV visible

سانتی‌متر و c مقدار آنتوسیانین بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر گیاه می‌باشد.

اندازه‌گیری فندهای احیا کننده: میزان فندهای احیا

کننده در برگ‌ها با استفاده از روش Somogy - Nelson (۱۹۵۲) اندازه‌گیری شد. در این روش، وجود فندهای احیا کننده در محلول باعث احیای Cu_2O می‌شود. سپس سولفات مس باعث احیای فسفومولبیدیک‌اسید موجود در محیط آزمایش می‌گردد که تولید رنگ آبی می‌کند. شدت رنگ تشکیل شده، که رابطه مستقیم با مقدار فندهای احیا کننده در محلول دارد، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV visible مدل Spector Flex 6600 در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت فندهای احیا کننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

از قبیل آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها، تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای MSTAT-C و SPSS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

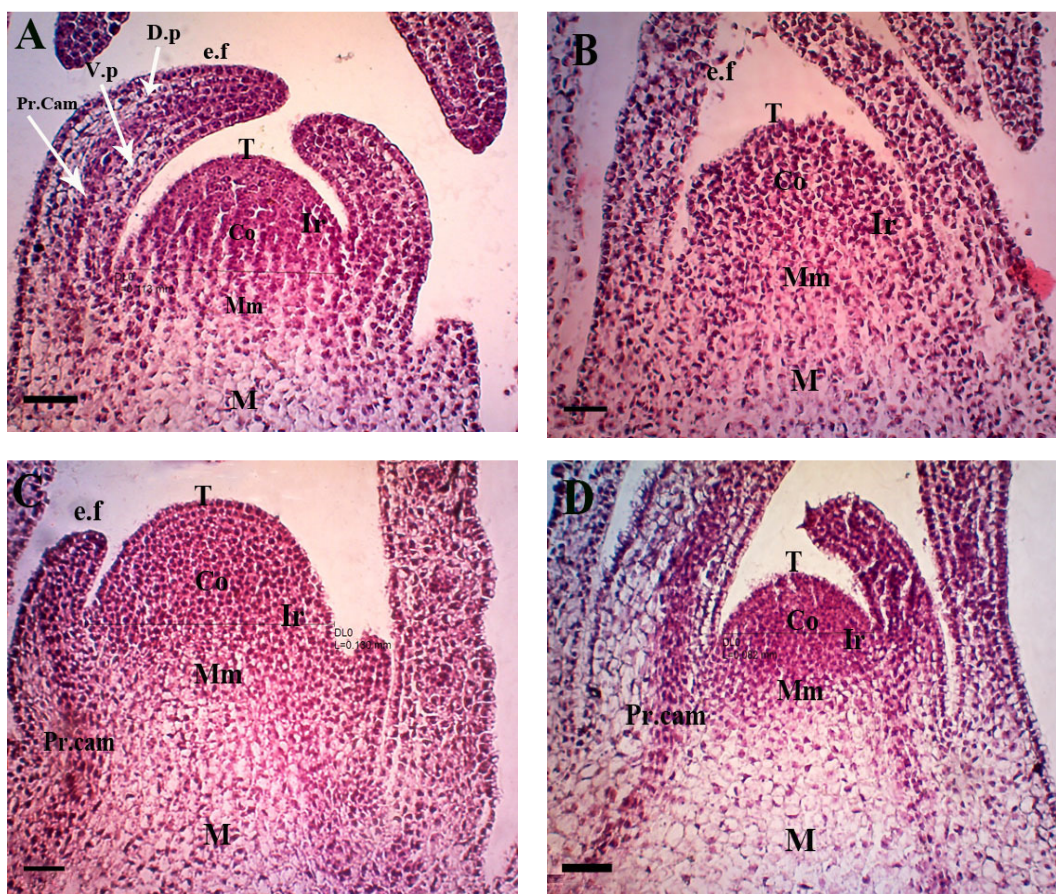
نتایج:

در بررسی برش‌های میکروتومی و مشاهده با میکروسکوپ نوری، در مریستم رأس ساقه گیاه شاهد، لایه‌های تونیکا (۱-۲ لایه) و توده کورپوس به وضوح دیده می‌شوند، در جوانب مریستم رأسی، حلقه بنیادی با رنگ‌پذیری زیاد قابل رویت است. طناب‌های پروکامبیومی در بخش رأسی دیده می‌شود و در قسمت مرکزی مریستم، مریستم مغزی قرار دارد (شکل ۱-۱A). در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک، تیمار شوری باعث بی‌نظمی ساختار مریستم رویشی ساقه شده و همچنین افزایش تراکم و رنگ‌پذیری سلول‌ها تحت تنش شوری مشاهده شد که این رنگ‌پذیری به صورت همگن می‌باشد. در عین حال شوری باعث کاهش اندازه سلول‌های مریستم رأس ساقه گردید (شکل ۱-۱B). مقایسه ابعاد مریستم رأس ساقه نشان داد که

تیمار شوری باعث کاهش ابعاد مریستم نسبت به گیاه شاهد شد به طوری که ابعاد مریستم در تیمار شاهد ۰/۱۰۶ تا ۰/۱۱۰ میلی‌متر و در تیمار شوری ۰/۰۷۶ تا ۰/۰۸۳ میلی‌متر بود. ساختار مریستم رأس ساقه در تیمار سیلیکون به تنهایی تفاوت چندانی را با نمونه شاهد نشان نداد به طوری که حتی افزایش ابعاد مریستم هم دیده شد و متوسط ابعاد مریستم حدود ۰/۱۳۰ میلی‌متر بود (شکل ۱-۱C). در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون، ساختار مریستم تفاوت‌هایی را با تیمار شوری نشان داد و سیلیکون توانست اثرات منفی تیمار شوری بر ساختار مریستم را تعدیل کند. ابعاد مریستم در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون ۰/۱۰۲ تا ۰ میلی‌متر بود (شکل ۱-۱D).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات مختلف گیاه گاوزبان تحت تیمار شوری و سیلیکون در جدول (۱) ارائه شده است. بررسی نتایج تغییرات میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه گاوزبان نشان داد که تیمار شوری باعث کاهش ۴۹ درصدی مقدار کلروفیل a نسبت به گیاهان شاهد شد ($P \leq 0.05$). در تیمار سیلیکون به تنهایی، غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون باعث افزایش ۲۴ درصد و غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون باعث کاهش ۱۹ درصد مقدار کلروفیل a نسبت به شاهد شدند. در گیاهان تیمار شده با سیلیکون توأم با شوری در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون به ترتیب افزایش ۳۴، ۴۲ و ۴۳ درصدی میزان کلروفیل a نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۲-۱a).

بررسی نتایج مربوط به میزان کلروفیل b نشان داد که شوری باعث کاهش ۵۱ درصدی میزان کلروفیل b نسبت به شاهد شد. همچنین در تیمار سیلیکون به تنهایی غلظت‌های مختلف سیلیکون باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل b نسبت به گیاه شاهد نشد و تنها غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون باعث کاهش ۳۱ درصد میزان کلروفیل b نسبت به شاهد شد. در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون افزایش معنی‌داری در سطح ۵ درصد در میزان کلروفیل b مشاهده شد. غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون به ترتیب باعث افزایش ۳۶، ۴۵ و ۴۰ درصدی میزان کلروفیل b



شکل ۱- ساختار تشریحی مرستم رأس ساقه گیاه گاوزبان دارویی (A) گیاه شاهد، (B) تیمار شوری، (C) تیمار سیلیکون به تنهایی، (D) تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون، T: تونیکا، Co: کورپوس، Mm: مرستم مغزی، Ir: حلقه جانبی، Pr.Cam: طناب پروکامبیومی، M: مغز، ef: طرح اولیه برگ، Vp: پارانشیم شکمی و Dp: پارانشیم پشتی (مقیاس ۰/۰۲ میلی‌متر).

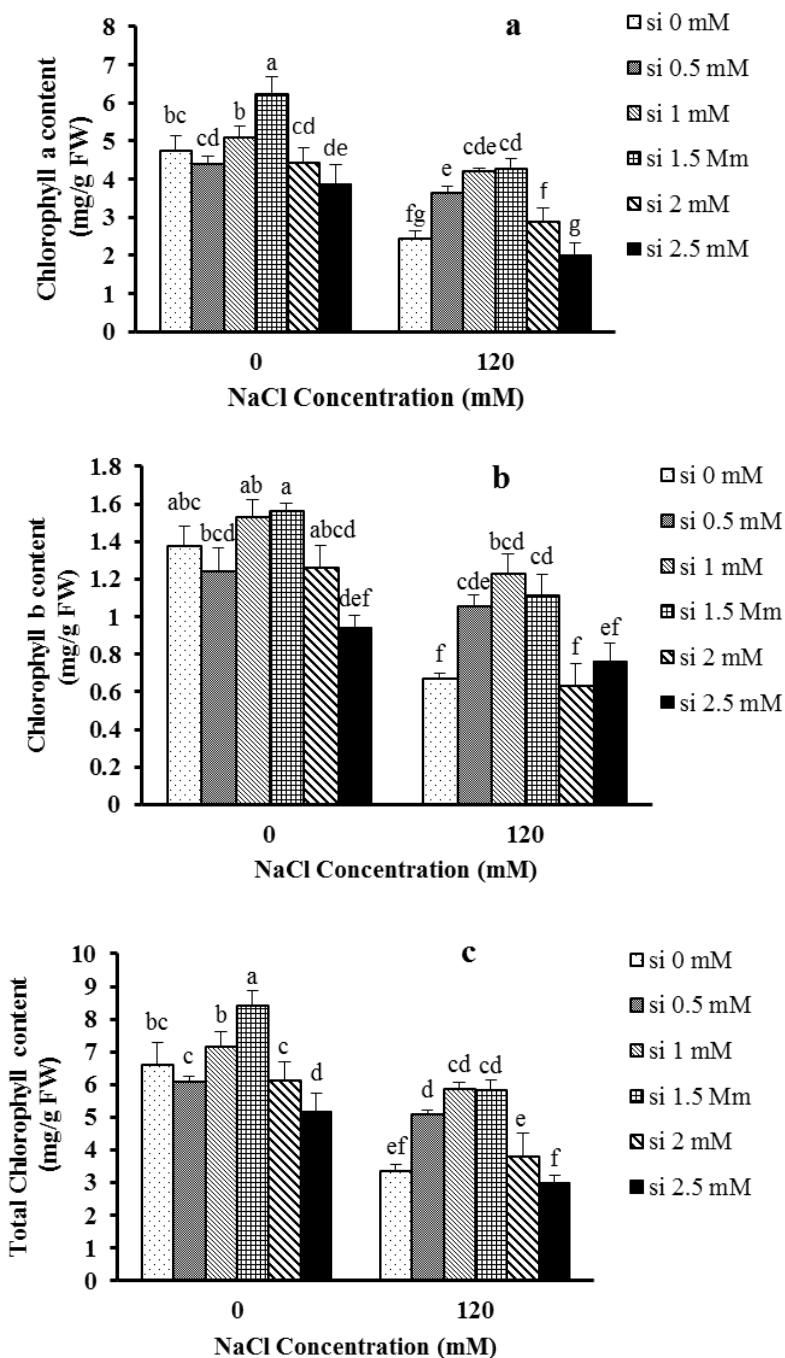
جدول ۱- خلاصه تجزیه واریانس برای صفات مورد بررسی گیاه گاوزبان دارویی در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	میانگین مربعات		
					کاروتنوئید	آنتوسیانین	ترکیبات فنلی
قندهای احیا							
سیلیکون	۵	۲۰/۵۱۸**	۱/۳۶**	۳۷/۰۵۱**	۱/۵۳۵**	۰/۰۶۱**	۱۴۷/۹۷۱**
شوری	۱	۲۱/۸۸۱**	۱/۴۸۲**	۴۰/۴۷۶**	۱/۶۸۸*	۰/۱۵**	۴۹۷/۴۱۸**
سیلیکون × شوری	۵	۲/۸۲۳*	۰/۳۷۵*	۵/۱۶۸*	۰/۲۴۵*	۰/۰۶۹**	۴۳/۵۵۸**
خطا	۳۶	۲/۵	۰/۷۰۳	۴/۵۲۴	۰/۲۳۷	۰/۰۱۲	۲/۲۶۲

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

درصد در میزان کلروفیل کل نسبت به گیاهان شاهد شد. در تیمار گیاه توسط غلظت‌های مختلف سیلیکون غلظت ۱/۵

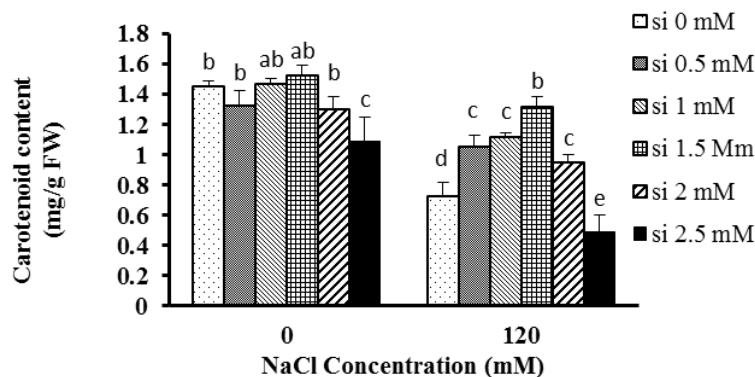
نسبت به شاهد شدند (شکل ۲ - b). نتایج تغییرات میزان کلروفیل کل نشان داد که تیمار شوری باعث کاهش ۴۹



شکل ۲- برهم کنش شوری و سیلیکون بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b) و کلروفیل کل (c)) در بخش هوایی گیاه گاوزبان دارویی. داده‌ها میانگین ۴ تکرار \pm SD و حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P \leq 0.05$) می‌باشد.

شوری و سیلیکون نیز غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون تأثیر مثبت در افزایش میزان کلروفیل کل داشتند و به ترتیب باعث افزایش ۳۴، ۴۳ و ۴۲ درصدی میزان کلروفیل

میلی‌مولار سیلیکون باعث افزایش ۲۲ درصد و غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون نیز باعث کاهش ۲۱ درصد میزان کلروفیل کل نسبت به گیاه شاهد شدند. در تیمار هم‌زمان



شکل ۳- برهم کنش شوری و سیلیکون بر محتوای کاروتنوئید در بخش هوایی گیاه گاوزبان دارویی. داده‌ها میانگین \pm تکرار ۴ SD و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) می‌باشد.

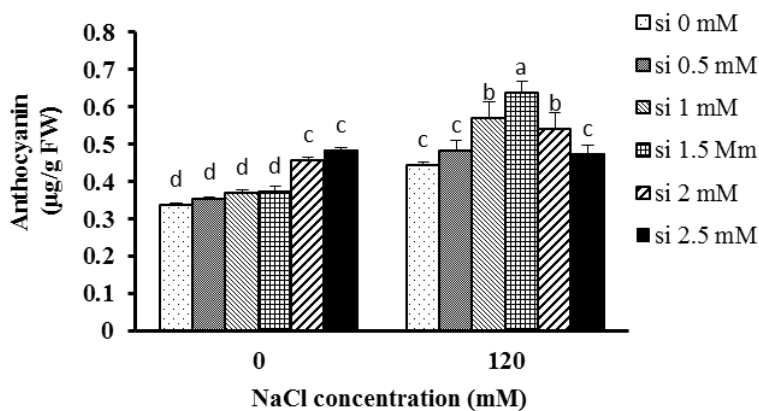
درصدی ترکیبات فنلی در برگ گیاه گاوزبان نسبت به شاهد شد که این کاهش در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (شکل ۵). از طرف دیگر تأثیر غلظت‌های مختلف سیلیکون بر میزان ترکیبات فنلی معنی‌دار بود و غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون باعث افزایش ۹ و ۱۳ درصد میزان ترکیبات فنلی نسبت به گیاه شاهد شدند و همچنین غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون نیز باعث کاهش ۷ درصدی ترکیبات فنلی نسبت به شاهد شد. در تیمار توأم شوری و سیلیکون، تمامی غلظت‌های سیلیکون باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی شدند ولی بیشترین افزایش در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون و به میزان ۶۵ درصد افزایش میزان ترکیبات فنلی نسبت به شاهد بود.

تأثیر تیمار شوری بر مقدار قندهای احیا کننده در اندام هوایی معنی‌دار بود (شکل ۶). تیمار شوری باعث کاهش ۵۳ درصد در مقدار قندهای احیا کننده در اندام هوایی نسبت به گیاه شاهد شد. در تیمار سیلیکون به تنهایی، میزان قندهای احیا کننده در غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار به ترتیب افزایش ۱۰ و ۱۸ درصدی نسبت به شاهد نشان دادند. همچنین غلظت‌های ۲ و ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون باعث کاهش ۱۵ و ۵۰ درصدی میزان قندهای احیا کننده نسبت به گیاه شاهد شدند. کمترین مقدار قندهای احیا کننده در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون مشاهده شد. در عین حال در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون، تأثیر سیلیکون

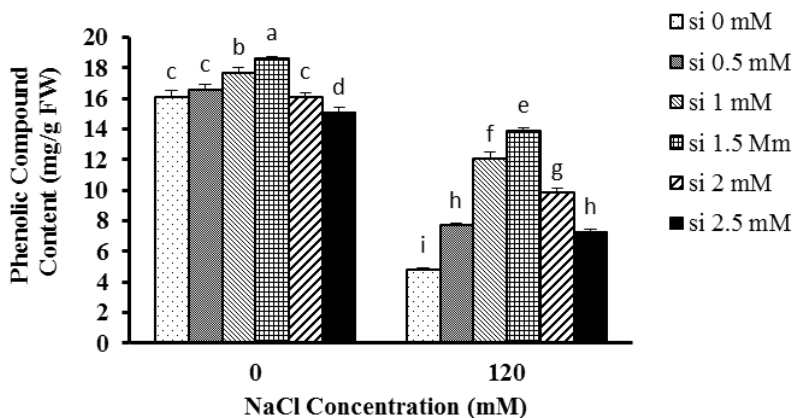
کل نسبت به شاهد شدند (شکل ۲- c).

نتایج نشان داد که تیمار شوری باعث کاهش ۵۰ درصدی مقدار کاروتنوئید برگ نسبت به گیاه شاهد شد. همچنین غلظت‌های مختلف سیلیکون باعث افزایش معنی‌دار میزان کاروتنوئید برگ نسبت به گیاه شاهد نشدند. تنها غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون باعث کاهش ۲۵ درصدی مقدار کاروتنوئید برگ نسبت به گیاه شاهد شد. در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون نیز غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار سیلیکون باعث افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئید نسبت به شاهد شدند و بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون و به میزان ۴۵ درصد افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۳).

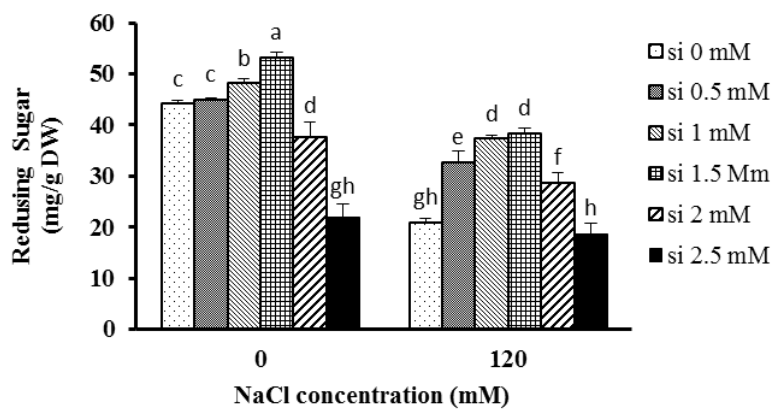
میزان آنتوسیانین نیز تحت تأثیر تیمار شوری قرار گرفت (شکل ۴). تیمار شوری باعث افزایش معنی‌دار در حدود ۲۴ درصد در میزان آنتوسیانین نسبت به گیاه شاهد شد. تأثیر تیمار سیلیکون نیز بر میزان آنتوسیانین معنی‌دار بود و غلظت‌های ۲ و ۲/۵ میلی‌مولار سیلیکون به ترتیب باعث ۲۶ و ۳۰ درصد افزایش در میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد گردیدند. در تیمار هم‌زمان سیلیکون و شوری در غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار به ترتیب افزایش ۲۳، ۳۰ و ۱۸ درصد در میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد مشاهده شد. نتایج تأثیر شوری و غلظت‌های مختلف سیلیکون بر مقدار ترکیبات فنلی برگ نشان داد که شوری باعث کاهش ۷۰



شکل ۴ - برهم کنش شوری و سیلیکون بر محتوای آنتوسیانین در بخش هوایی گیاه گاوزبان دارویی. داده‌ها میانگین ۴ تکرار \pm SD و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) می‌باشد.



شکل ۵ - برهم کنش شوری و سیلیکون بر محتوای ترکیبات فنلی در بخش هوایی گیاه گاوزبان دارویی. داده‌ها میانگین ۴ تکرار \pm SD و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) می‌باشد.



شکل ۶ - برهم کنش شوری و سیلیکون بر مقدار قندهای احیاکننده اندام هوایی گیاه گاوزبان دارویی. داده‌ها میانگین ۴ تکرار \pm SD و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بر اساس آزمون Duncan می‌باشد.

محیط کشت باعث افزایش پتانسیل اسمزی شده و از طرفی مانع درون‌شارش یون Na^+ به درون گیاه و متعاقباً سلول‌های مرستمی شده و از آسیب ایجاد شده توسط نمک در سلول‌های مرستمی جلوگیری می‌کند (Gong *et al.*, 2006).

در این مطالعه تنش شوری موجب کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید) گردید. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری می‌تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیل‌لاز و اختلالات هورمونی باشد (Rout *et al.*, Neocleus and Vasilakakis, 2007; 1997/1998; Desingh and Kanagaraj, 2007; *al.*, 2007). هر چند که تجمع یون‌های سدیم و کلر در برگ‌ها تحت تنش شوری نیز تأثیر منفی بر غلظت کلروفیل دارد (Sultana *et al.*, 1999; Stepien and Klobus, 2006). کاهش مقدار کاروتنوئید در شرایط تنش نیز به علت تجزیه بتاکاروتن در چرخه گزانتوفیل می‌باشد (Sultana *et al.*, 1999). کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی (Juan *et al.*, 2005) و سویا (Abd-El Samad and Shaddad, 1997) گزارش شده است.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سیلیکون، میزان کلروفیل کل، کلروفیل *a* و *b* تغییر یافت. به نظر می‌رسد تأثیر مثبت سیلیکون به دلیل رسوب آن در پهنای برگ، افزایش استحکام برگ‌ها و نیز افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ باشد که از این طریق توانایی گیاه برای استفاده مؤثرتر از نور را بالا می‌برد (Nabati *et al.*, 2013). سیلیکون همچنین با تأثیر بر فراساختار کلروپلاست (Liang, 1996)، افزایش کارایی فتوسیستم II (Al-Aghabary, 2004) باعث افزایش میزان فتوسنتز می‌شود.

بر اساس گزارشات محققان و نتایج حاصل از این مطالعه، به نظر می‌رسد که تیمار سیلیکون به عنوان یک

مثبت بوده و باعث افزایش مقدار قندهای احیاکننده شد و غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار به ترتیب باعث ۴۴ و ۴۶ درصد افزایش قندهای احیاکننده نسبت به شاهد شدند.

بحث:

هنگامی که گیاهان در معرض شرایط تنش قرار می‌گیرند، راهکارهای متفاوتی را انتخاب کرده که ویژه‌گونه و در نوع خود بی‌نظیر می‌باشند و به شرایط گیاه و عوامل ژنتیکی آن مربوط می‌باشد. هدف از اتخاذ این شیوه‌ها فراهم کردن شرایطی است که گیاه بتواند تنش به وجود آمده را تحمل کند و به حیات خود ادامه دهد. تنش اسمزی ناشی از مقادیر بالای یون‌های سدیم و کلر، به طور معمول بر سرعت تقسیم یاخته‌ای اثر منفی داشته و در نتیجه سرعت کمتر نمو یا کاهش در طول مدت توسعه می‌تواند منشأ آسیب باشد (Akhtar *et al.*, 2001).

تیمار شوری منجر به تعداد زیادی از تغییرات در ساختار و ترکیب تمامی اجزای سلول مرستمی می‌شود. اولین نشانه منفی گسترده پلاسمولیز است در حالی که بیشتر تغییرات خاص شامل واکوئولی شدن سلول، تغییر شکل کروماتین هسته و آسیب به غشای پلاسمایی است. پلاسمولیز و تغییرات هسته به نظر می‌رسد که توسط از دست دادن آب ایجاد شوند (Bennici and Corrado, 2009). همچنین تغییرات تشریحی دیگر شامل افزایش تراکم، رنگ‌پذیری و خاصیت بازوفیلی سلول‌های مرستم می‌باشد. که می‌تواند به دلیل تغییر شکل مرستم از شکل رویشی به مرحله‌ای شبیه به مرستم زایشی باشد. تغییرات ایجاد شده در ساختار مرستم رأس ساقه تحت تنش شوری در گیاه گاوزبان، با نتایج حاصل از پژوهش‌های مجد و جعفری (۱۳۷۵)، مجد و محمودزاده (۱۳۸۴) و مجد و شهبازی (۱۹۹۶) هم‌خوانی دارد.

طبق نتایج بررسی‌های میکروسکوپی مرستم رأس ساقه، تیمار سیلیکون باعث کاهش اثرات تنش شوری بر ساختار مرستم شد. به نظر می‌رسد کاربرد سیلیکون در

Echium amoenum در تیمار هم‌زمان سیلیکون و کادمیوم مشاهده شد (Amiri et al., 2012).

طبق نتایج به دست آمده کاربرد سیلیکون باعث افزایش مقدار ترکیبات فنلی تحت شرایط تنش شوری در گیاه گاوزبان شد. ترکیبات فنلی از مشتقات مسیر فنیل پروپانوید بوده و از اجزاء سیستم دفاع غیرآنزیمی و آنتی‌اکسیدانی سلول محسوب می‌شوند. این ترکیبات می‌توانند به عنوان خاموش کننده و یا جاروب کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا سایر گونه‌های فعال اکسیژن عمل نمایند. با توجه به نقش ترکیبات فنلی در کاهش و یا مهار اتواکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی یا تجزیه‌ی پراکسیدها، این ترکیبات به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری برای حفاظت علیه تکثیر و پیش‌روی زنجیره‌ی اکسیداتیو و دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌نمایند. تیمار گیاه با سیلیکون ممکن است به طور مستقیم و یا غیرمستقیم باعث القای ژن‌های مسیر بیوستز این ترکیبات شده باشد و یا آن که فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوستز آنها را افزایش داده باشد و از این طریق باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر شوری شده است (Maksimovic et al., 2007). افزایش میزان ترکیبات فنلی در اثر تیمار سیلیکون در گیاه سورگوم تحت تنش شوری (Kafi et al., 2011) نیز مشاهده شد که با نتایج ما هم‌سویی دارد.

در تحقیق حاضر مقادیر کربوهیدرات‌های احیا در تیمار شوری تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان داد و میزان آن کاهش یافت. به نظر می‌رسد که گیاه گاوزبان برای مقاومت در برابر شوری از مکانیسم‌های دیگری برای سازگاری با تنش استفاده می‌کند. تیمار توأم شوری و سیلیکون باعث افزایش میزان کربوهیدرات‌های احیا کننده گردید که با توجه به نقش‌های مختلف حفاظتی قندها در شرایط تنش از جمله تنظیم اسمولاریته سلولی و حفاظت ساختارهای سلولی و آنزیم‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد، ممکن است دلیل کاهش اثر منفی در برابر تنش شوری

فرآیند مقاوم سازی (Hardening) عمل نموده است و باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری بر میزان کاروتنوئید می‌شود. کاروتنوئیدها به عنوان گیرنده نوری و حفاظت کننده فتوسیستم بر علیه اکسیژن یکتایی عمل می‌کند (Koyro, 2006). کاروتنوئیدها انرژی زیادی را از فتوسیستم I و II به صورت گرما یا واکنش‌های شیمیایی بی‌ضرر دفع کرده و می‌توانند غشاهای کلروپلاستی را حفظ نمایند (Juan et al., 2005; Koyro, 2006; Matysik et al., 2002). کاروتنوئیدها علاوه بر خاموش کردن اکسیژن یکتایی، به طور مستقیم می‌توانند توسط اکسیژن یکتایی اکسید شوند. به علاوه قادرند حالت برانگیخته سه تایی کلروفیل را خاموش نمایند. بنابراین به طور غیرمستقیم نیز تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند (Loggini et al., 1999). به این ترتیب با افزایش میزان کاروتنوئیدها تحت تیمار سیلیکون از صدمات ناشی از تنش شوری بر سیستم فتوستیزی و رنگیزه‌های گیاه گاوزبان کاسته می‌شود.

به منظور بررسی چگونگی عملکرد گیاه گاوزبان در برابر تنش شوری، میزان آنتوسیانین‌ها در گیاهان تیمار شده با شوری و سیلیکون اندازه‌گیری شد. عوامل محیطی تنش از قبیل اشعه ماورا بنفش، سرما، خشکی، شوری، کمبود مواد غذایی و آلودگی هوا باعث تجمع رنگدانه آنتوسیانین در برگ‌ها می‌شوند. از نقش‌های اصلی آنتوسیانین‌ها می‌توان به نقش آنتی‌اکسیدانی و محافظت سیستم فتوستیزی در برابر فتواکسیداسیون اشاره نمود که در گیاهان در معرض تنش نقش محافظتی ایفا می‌کنند (He et al., 2010). افزایش آنتوسیانین در تیمار شوری و تیمار شوری توأم با سیلیکون مشاهده شد. به نظر می‌رسد تیمار سیلیکون با پیشگیری از افت معنی‌دار آنتوسیانین در گیاه گاوزبان تیمار شده با شوری، سبب کاهش اثرات مضر شوری بر سیستم فتوستیزی شده و می‌تواند مقاومت گیاه را نسبت به تنش شوری افزایش دهد (Shen et al., 2010). نتایج مشابهی در مورد افزایش میزان آنتوسیانین در گیاه

تشریحی گیاه گاوزبان دارویی را کاهش داده و تعدیل نماید. با توجه به این که پاسخ گیاهان به تیمار سیلیکون در طبیعت و محیط رشد آزمایشگاهی متفاوت است، بنابراین لازم است بهینه سازی غلظت سیلیکون قبل از تحقیقات مفصل صورت گیرد. ثانیاً، سیلیکون یک عنصر فعال زیستی است و گرچه مطالعات اخیر نشان می‌دهد که اثرات مفید سیلیکون تحت شرایط تنش آشکارتر است اما سیلیکون همچنین نقش فعال در فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه دارد و ممکن است نقش مهمی در سنتز درون سلولی ترکیبات آلی داشته باشد. در این مطالعه با در نظر گرفتن سطح شوری و به منظور بهبود شرایط رشد و نمو گیاه گاوزبان دارویی، غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون به عنوان مناسب‌ترین تیمار تشخیص داده شد.

باشد (Kerepesi and Galiba, 2000). به نظر می‌رسد که در این آزمایش، در گیاهان تیمار شده با شوری و سیلیکون میزان تثبیت CO₂ به خاطر بالاتر بودن محتوای کلروفیل و کاهش نکروزه شدن برگ‌ها بیشتر از گیاهان رشد یافته تحت تنش شوری می‌باشد و این امر سبب تولید قند و تجمع بیشتر آن در گیاه گردیده است (Silva et al., 2012). این مطالب با گزارش سعادت‌مند و انتشاری (۱۳۹۱) در مورد افزایش میزان قندهای احیا کننده در تیمار هم‌زمان شوری و سیلیکون در گیاه *Echium amoenum* هم‌سویی دارد.

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که سیلیکون قادر است که آثار زیان بار تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و

منابع:

- Ahmed, M., Hassen, F. and Khurshid, Y. (2011) Does silicon and irrigation have impact on drought tolerance mechanism of sorghum? *Agriculture Water Management* 98: 1808-1812.
- Akhtar, Sh., Wahid, A., Akram, M. and Rasul, E. (2001) Some growth, photosynthetic and anatomical attributes of sugarcane genotypes under NaCl salinity, *International Journal of Agriculture and Biology* 3: 439-443.
- Al-aghaby, K., Zhu, Z. and Shi, Q. (2004) Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 27: 2101-2115.
- Amiri, J., Entesari, Sh., Delavar, K., Saadatmand, M. and Rafie, N. A. (2012) The Effect of Silicon on Cadmium Stress in *Echium amoenum*. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 62: 242-245.
- Bennici, A. and Corrado T. (2009) Ultrastructural effects of salinity in *Nicotiana bigelovii* var. *bigelovii* callus cells and *Allium cepa* roots. *Caryologia* 62: 124-133.
- Chen, W., Yao, X., Cai, K. and Chen, J. (2011) Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. *Biological Trace Element Research* 142: 67-76.
- Desingh, R. and Kanagaraj, G. (2007) Influence of salinity stress on photosynthesis and
- سعادت‌مند، م. و انتشاری، ش. (۱۳۹۱) اثر طول زمان پیش تیمار با سیلیکون بر تحمل شوری در گیاه گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch & C.A. mey). *علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای* ۳: ۴۵-۵۷
- مجد، ا. و جعفری، س. (۱۳۷۵) اثر تنش ناشی از کلرید سدیم بر تکوین اندام‌های رویشی و زایشی و میزان باردهی دو رقم بادام زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. تهران.
- مجد، ا. و محمودزاده، آ. (۱۳۸۴) اثر تنش شوری بر مراحل تکوینی و عملکرد مریستم‌های رأسی در کلزا. رساله دکتری. دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات. تهران.
- نقدی بادی، ح.، سروش زاده، ع.، رضازاده، ش.، شریفی، م.، فلاوند، ا. و امید، ح. (۱۳۸۶) مروری بر گیاه گاوزبان (گیاه دارویی با ارزش و غنی از گاما‌لینولینیک اسید). فصلنامه گیاهان دارویی ۶: ۱-۱۶.
- Abd El Samad, H. M. and Shaddad, M. A. K. (1997) Salt tolerance of soybean cultivars. *Biologia Plantarum* 39: 263-269.

- Liang, Y. C., Shen, Q. R., Shen, Z. G. and Ma, T. S. (1996) Effects of silicon on salinity tolerance of two barley cultivars. *Journal of Plant Nutrition* 19: 173-183.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Macromolecular Crystallography* 148: 350-382.
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E. and Navari-Izzo, F. (1999) Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology* 119: 1091-1099.
- Ma, J. F. and Yamaji, N. (2006) Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science* 11: 392-397.
- Ma, J. F., Yamaji, N. (2008) Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and Molecular Life Science* 65: 3049-3057.
- Majd, A. and Shahbazi, M. (1996) The effects of salt stress on the shoot apical meristem and leaf generation in sunflower (*Helianthus annuus*) *Journal of Science Islamic Republic of Iran* 7: 137-144.
- Maksimovic, J. D., Bogdanovic, J., Maksimovic, V. and Nikolic, M. (2007) Silicon modulates the metabolism and utilization of phenolic compounds in cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown at excess manganese. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170: 739-744.
- Matysik, J., Alia, A., Bhalu, B. and Mohanty, P. (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science* 82: 525-532.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.
- Nabati, J., Kafi, M., Masoumi, A. and Zare Mehrjerdi, M. (2013) Effect of salinity and silicon application on photosynthetic characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *International Journal of Agricultural Sciences* 3: 483-492.
- Neocleous, D. and Vasilakakis, M. (2007) Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. "Autumn Bliss"). *Scientia Horticulturae* 112: 282-289.
- Rout, N. P., Tripathi, S. B. and Shaw, B. P. (1997/98) Effect of salinity on chlorophyll and proline content in three aquatic macrophytes. *Biologia Plantarum* 40: 453-458.
- Samuels, A. L., Glass, A. D. M., Ehret, D. L. and Menzies, J. G. (1993) The effects of silicon supplementation on cucumber fruit: Changes in surface characteristics. *Annals Botany* 72: 433-440.
- 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.
- Gong, H. J., Randall, D. P. and Flower, T. J. (2006) Silicon deposition in the root reduces sodium uptake in rice seedling by reducing bypass flow. *Plant Cell and Environment* 111: 1-9.
- Hashemi, A., Abdolzadeh, A. and Sadeghipour, H. R. (2010) Beneficial effects of silicon nutrition in alleviating salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L., plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 56: 244-253.
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N., Pan, Q., Wang, J., Reeves, M. and Duan, C. (2010) Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* 15: 9057-9091.
- Hewitt, E. J. (1966) Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. *Tech. Commun.* 22, Commonwealth Bureau of Hort. and Plantation Crops, East Malling, England.
- Juan, M., Rivero, R. M., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2005) Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 54: 193-201.
- Kafi, M., Nabati, J., Masoumi, A. and Zare Mehrjerdi, M. (2011) Effect of salinity and silicon application on oxidative damage of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Pakistan Journal of Botany* 43: 2457-2462.
- Kerepesi, I., Galiba, G. (2000) Osmotic and salt stress induced alternation in Soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science* 40: 482-487.
- Kim, Y. H., Khan, A. L., Hamayun, M., Kang, S. M., Beom, Y. J. and Lee, I. J. (2011) Influence of short-term silicon application on endogenous phytohormonal levels of *Oryza sativa* L. under wounding stress. *Biological Trace Element Research* 144: 1175-1185.
- Koyro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany* 56: 136-149.
- Lee, S. K., Yoon, J. Y., Sohn, E. Y., Lee, I. J. and Hamayun, M. (2010) Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. *Agroforestry Systems* 80: 333-340.
- Liang, Y. C., Zhang, W. H., Chen, Q., Liu, Y. L. and Ding, R. X. (2006) Effect of exogenous silicon (Si) on H⁺-ATPase activity, phospholipids and fluidity of plasma membrane in leaves of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental and Experimental Botany* 57: 212-219.

- Stepien, P. and Klobus, G. (2006) Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biologia Plantarum* 50(4): 610-616.
- Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany* 42: 211-220.
- Wanger, G. J. (1979) Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Yeung, E. C. (1984) Histological and histochemical staining procedures. (ed. Vasil, I. K.). pp. 689-697. Academic Press, New York.
- seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Journal of Plant Physiology* 167: 1248-52.
- Silva, O. N., Lobato, A. K. S., Avila, F. W., Costa, R. C. L., Oliveira Neto, C. F., Santos Filho, B. G., Martins Filho, A. P., Lemos, R. P., Pinho, J. M., Medeiros, M. B. C. L. Cardoso, M. S. and Andrade, I. P. (2012) Silicon-induced increase in chlorophyll is modulated by the leaf water potential in two water-deficient tomato cultivars. *Plant Soil and Environment* 58: 481-486.
- Somogy, M. (1952) Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry* 195: 19-29.
- Sonald, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolic and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1: 1-5.