

اثرات تیمار سیلیس بر بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) به تنش شوری

شکوفه حاجی‌هاشمی*، ام‌البنین جهان تیغ و ابراهیم فانی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، خوزستان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۶/۲۹)

چکیده

افزایش روزافزون جمعیت و نیاز به کشت گیاهان در مناطق دارای غلظت‌های بالای نمک لزوم ارائه راهکارهای مناسب جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری را افزوده است. مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر سیلیکات‌پتاسیم (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) در کاهش اثرات مضر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) در گیاه تربچه در کشت گلدانی در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با چهار تکرار آزمایشگاهی طراحی شد. تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار فلورسانس و میزان کلروفیل‌ها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و زیتوده برگ گیاهان شد، درحالی‌که تیمار سیلیس سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر آنها شد. در پاسخ به تنش شوری میزان پرولین، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، تجمع آب‌اکسیژنه و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء افزایش معنی‌داری نشان دادند، درحالی‌که میزان فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی FRAP در گیاهان کاهش یافتند. تیمار سیلیس در گیاهان تحت تنش شوری سبب افزایش میزان فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی FRAP شد که با کاهش تجمع آب‌اکسیژنه و در نتیجه کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء توأم بود. براساس نتایج مطالعه حاضر، تیمار سیلیس با کاهش اثرات مضر تنش شوری بر محتوی و فلورسانس کلروفیل‌ها، کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن، و افزایش آنتی‌اکسیدانت‌ها و ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر روی گیاه تربچه شد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدانت‌ها، پروتئین، پرولین، فلورسانس کلروفیل‌ها، کربوهیدرات‌ها

مقدمه

سبب بالآمدن سطح آب‌های زیرزمینی شده و سبب شوری خاک می‌شوند. با توجه به افزایش بی‌رویه جوامع بشری و افزایش نیازهای غذایی در سرتاسر جهان، نیاز استفاده از زمین‌های شور جهت کشاورزی افزایش یافته است (Ibrahimova et al., 2021). طبق گزارش وزارت کشاورزی ایالات متحده، خاک دارای هدایت الکتریکی بالاتر از ۴ دسی

غلظت بالای نمک خاک یکی از عوامل اصلی محدودکننده محصولات زراعی در نیم قرن اخیر است (Kopittke et al., 2019). در مناطق خشک و نیمه‌خشک، شوری خاک بر اثر تبخیر آب‌های سطحی و بالآمدن نمک‌های محلول به سطح خاک بر اثر خاصیت موئینگی اتفاق می‌افتد. علاوه بر آن، استفاده از سیستم‌های آبیاری نامناسب و آبیاری بی‌رویه نیز

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: hajhashemi@bkatu.ac.ir

(*al.*, 2020). سیلیس در گیاهان به صورت اسید سیلیسیک (Si(OH)_4) و از طریق مسیرهای فعال و غیرفعال منتقل می‌شود (Takahashi *et al.*, 1990; Feng *et al.*, 2011; Debona *et al.*, 2017). در میان مسیرهای مختلف انتقال سیلیس، فعال‌ترین مسیر انتقال از طریق پروتئین آکوپورین NOD_{26} است (Gregoire *et al.*, 2012; Deshmukh *et al.*, 2013). در مطالعات بر روی تقریباً ۵۰۰ گیاه مختلف نشان داده است که میزان سیلیس در گیاهان از حدود ۰/۱ درصد وزن خشک در گوجه‌فرنگی تا حدود ۱۰ درصد وزن خشک در برنج متغیر است، درحالی‌که عملکرد دقیق آن در بسیاری از گیاهان به‌طور دقیق مشخص نشده است (Ma and Takahashi, 2002; Deshmukh *et al.*, 2013; Debona *et al.*, 2017). سیلیس سبب افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف از جمله خشکی، شوری، گرما، کپک پودری، غرقابی، فلزات سنگین، گیاه‌خواران و غیره می‌شود (Al-aghaby *et al.*, 2005; Zuccarini, 2008; Chen *et al.*, 2011; Debona *et al.*, 2017; Luyckx *et al.*, 2017b, a; Liu *et al.*, 2019). به‌طور کلی، سازوکار مقاومت به تنش با واسطه تیمار سیلیس را می‌توان به بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان نسبت داد. تیمار سیلیس سبب افزایش رشد و زیتوده گیاه، افزایش جذب عناصر ضروری، هموستازی یونی، حفظ استحکام ساختاری سلول، افزایش کارایی فتوسنتز، فعال‌سازی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان، افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه مربوط به مقاومت به تنش، و تنظیم ژن‌های درگیر در فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی می‌شود (Liu *et al.*, 2019). در شرایط تنش شوری ناشی از کلرید سدیم، سیلیس سبب کاهش جذب آپوپلاستی یون‌های سدیم و کلر می‌شود (Liu *et al.*, 2019). براساس گزارش Hurtado و همکاران (۲۰۲۰)، محلول‌پاشی گیاهان سورگوم و آفتابگردان با سیلیکات‌پتاسیم سبب افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان شد که با کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و در نتیجه کاهش اثرات مضر تنش شوری بر روی رشد گیاهان توأم بود. تربچه (*Raphanus sativus* L.) یک گیاه مدل است که یکی از ویژگی‌های اصلی آن خوراکی بودن همه قسمت‌های

زیمنس بر متر که معادل ۴۰ میلی‌مولار کلرید سدیم است، شور تلقی می‌شود (Munns and Tester, 2008).

با قرارگرفتن گیاه در معرض غلظت بالای نمک، میزان جذب آب به‌شدت کاهش می‌یابد. این مسئله سطح آب درون و برون‌سلولی گیاه را تحت‌تأثیر قرار داده و همچنین باعث کاهش فعالیت روزنه‌ای و در نتیجه فتوسنتز می‌شود (Liu *et al.*, 2019). غلظت بالای نمک در خاک سبب برهم‌خوردن تعادل یونی و کاهش جذب عناصر ضروری گیاه مانند کلسیم و پتاسیم می‌شود که با تنش یونی همراه است. عدم تعادل یونی و اسمزی در شرایط تنش نمکی رشدونمو گیاهان را مختل می‌کند (Mudgal *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2019). تجمع نمک‌ها باعث کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها، کاهش فعالیت آنزیم رویسکو، و آسیب به سیستم فتوسنتزی می‌شود. در نتیجه، تولید و تجمع میزان زیادی گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (reactive oxygen species; ROS) روی می‌دهد که منجر به تنش اکسایشی می‌گردد. تجمع بیش از حد ROS به ماکرومولکول‌های حیاتی مانند اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها آسیب می‌رساند و یکپارچگی غشاء و متابولیسم‌های حیاتی سلول را مختل می‌کند (Liu *et al.*, 2019). فتوسنتز یکی از فرایندهای اصلی فیزیولوژیکی گیاه است که به تنش‌های محیطی حساس می‌باشد. یکی از مهم‌ترین و سریع‌ترین تکنیک‌ها برای ارزیابی عملکرد سیستم فتوسنتزی گیاه در پاسخ به شرایط تنش سنجش فلورسانس کلروفیل‌ها است (Bukhat *et al.*, 2020). بررسی عملکرد فتوسیستم II (PSII) به عنوان نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (F_v/F_m) تعریف می‌شود. شاخص PI_{ABS} ابزار دیگری است که نشان‌دهنده کارایی PSI و PSII در شرایط محیطی مختلف است (Hajihashemi *et al.*, 2018).

سیلیس بعد از اکسیژن فراوان‌ترین عنصر بر روی پوسته زمین است. سیلیس یک عنصر غیرضروری و در عین حال مفید برای بسیاری از گیاهان محسوب می‌شود (Liu *et al.*, 2019). گزارشات متعددی مبنی بر نقش عنصر سیلیس در کاهش اثرات مضر تنش‌های شوری در گیاهان وجود دارد (Rizwan *et al.*, 2015; Abdelaal *et al.*, 2020; Hurtado *et al.*, 2020).

رویشی این گیاه است. تنش شوری در گیاه تربچه سبب کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلورسانس کلروفیل‌ها تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش میزان رشد گیاه می‌شود (Bukhat et al., 2020). با توجه به توانایی سیلیس در افزایش عملکرد و تحمل به تنش شوری در گیاهان (Liu et al., 2019)، در مطالعه حاضر به بررسی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی گیاه تربچه در پاسخ به برهم کنش تیمار سیلیکات‌پتاسیم و تنش شوری ناشی از کلریدسدیم پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

بذر تربچه (*Raphanus sativus* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. مطالعه حاضر در دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا بهبهان در سال ۱۳۹۹ انجام شد. ابتدا بذرها را چند بار با آب معمولی شسته تا مواد زاید آن جدا شود. سپس بذرها به محلول الکل ۷۰٪ منتقل شدند و حدود ۳۰ ثانیه در آن محلول باقی ماندند. پس از آن بذرها از الکل به محلول ۲۰٪ حجمی وایتکس (هیپوکلریت سدیم) منتقل شده و به مدت ۱۵ دقیقه در آن محلول قرار گرفتند و بعد از آن سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. به منظور انجام کشت گیاه، ۳۶ عدد گلدان ۲ لیتری با حجم ۲ به ۱ از خاک گلدان تهیه از شرکت پی‌تی‌ران (شیراز) و پرلیت پر شدند و در هر گلدان ۱۰ عدد بذر استریل شده کشت شد. سپس گلدان‌ها به فضای آزاد مسقف منتقل شدند و به مدت ده روز با آب مقطر آبیاری شدند تا گیاهچه‌های دو برگی ظاهر شوند. سپس گیاهچه‌های درون هر گلدان به سه گیاهچه دارای ظاهراً تقریباً مشابه با ارتفاع و تعداد برگ یکسان کاهش یافتند. پس از آن گلدان‌ها به سه گروه ۱۲ تایی دسته‌بندی شدند. براساس آزمایشات مقدماتی صورت‌گرفته گیاهان با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار سیلیکات‌پتاسیم در فواصل زمانی سه روز و هفتگی محلول‌پاشی شدند. بررسی زیتوده گیاهان نشان داد که مناسب‌ترین غلظت‌ها ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار سیلیکات‌پتاسیم و فواصل تیمار سه روز بود. بر همین اساس در مطالعه حاضر

گیاهان موجود در هر گلدان با حدود ۱۰ میلی‌لیتر محلول سیلیکات‌پتاسیم با غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار با فواصل دوره‌ای سه روز محلول‌پاشی شدند. تیمار سیلیس به مدت یک‌ماه به طول انجامید. پس از طی دو هفته از اولین تیمار سیلیس، هر ۱۲ گلدان در هر گروه تیمار شده با سیلیس به سه گروه چهارتایی دسته‌بندی شدند و با غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به مدت یک ماه با فواصل دوره‌ای چهار روز با توجه به نیاز آبی گیاهان در حد ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شدند. به منظور جلوگیری از ایجاد شوک اسمزی در گیاهان، تیمار شوری ابتدا با غلظت ۵۰ میلی‌مولار آغاز شد و به‌طور تدریجی در دفعات آبیاری متوالی غلظت نمک به ۱۰۰ و سپس ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت. به منظور اطمینان از نتایج آزمایش و همچنین فراهم نمودن نمونه گیاهی کافی جهت انجام آنالیزهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، مراحل کشت و تیمار گیاهان در دو مرحله تکرار شد.

پس از آبیاری گیاهان با کلریدسدیم به مدت ۳۰ روز، فلورسانس و میزان کلروفیل‌ها در ده عدد از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته گیاهان به ازای هر تیمار در شرایط کاملاً یکسان اندازه‌گیری شد. دستگاه کلروفیل‌متر قابل حمل (CCM-200 plus Opti-sciences, Tyngsboro, Massachusetts, USA) برای تعیین میزان کلروفیل کل استفاده شد. دستگاه کلروفیل فلوریمتر (Hansatech Poket PEA, England) برای اندازه‌گیری شاخص‌های F_v/F_m و PI_{ABS} استفاده شد (Hajjhashemi et al., 2018). سپس گیاهان ۵۵ روزه به منظور سنجش صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک برداشت شدند.

سنجش زیتوده برگ‌های گیاهان: ده عدد از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته در گیاهان سالم ۵۵ روزه به‌ازای هر تیمار به‌طور جداگانه برداشت شده و بلافاصله توسط ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱ میلی‌گرم توزین شدند. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک و محتوی نسبی آب برگ‌ها، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شدند

(وزن/حجم) به خوبی ساییده شد. نمونه حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی لیتر عصاره گیاه با ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد داخل بن‌ماری (ریحان طب، ایران) حرارت داده شدند. سپس جهت توقف واکنش نمونه‌ها سریعاً به ظرف محتوی آب و یخ منتقل شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، چهار میلی لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط گردید. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پائین). در نهایت جذب بخش رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از پرولین خالص در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میکرومولار استفاده شد (Bates et al., 1973).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: مخلوط واکنش نمونه شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار $\text{pH} = 7$ ، 0.075% nitro blue tetrazolium; (NBT)، 0.1% میلی مولار اتیلن‌دی‌آمین‌ترا استیک اسید، 75% میکرومولار ریوفلاوین، 13% میلی مولار متیونین و 50% میکرولیتر عصاره پروتئین است. برای سنجش فعالیت آنزیم علاوه بر شاهد، برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر نیاز به نمونه کنترل نیز می‌باشد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در زیر لامپ فلورسانت ۴۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. یک لوله شاهد تهیه شد که شامل مواد ذکر شده در فوق و بدون عصاره آنزیمی بود و در روشنایی نیز قرار نگرفت. در لوله کنترل نیز مخلوط واکنش ذکر شده وجود داشت با این تفاوت که به آن عصاره آنزیمی اضافه نشد. بنابراین به دلیل عدم حضور آنزیم در کنترل، احیاء NBT در حضور نور به‌طور 100% در کنترل انجام و تمام NBT در مخلوط واکنش در حضور نور به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب در کنترل در 560 نانومتر نشان‌دهنده 100% احیای نوری NBT است و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی است. بنابراین یک واحد آنزیمی SOD مقدار آنزیمی است که موجب 50% ممانعت از

و مجدداً توسط ترازو توزین شدند. گزارشات وزن تر و خشک، و محتوی آب به‌ازای هر برگ صورت گرفته است.

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: در ابتدا به منظور استخراج کربوهیدرات‌ها، 0.1% گرم از بافت خشک برگ توزین شد و با 10 میلی لیتر آب مقطر گرم با دمای 50 درجه سانتی‌گراد در هاون سائیده شده و به لوله‌های آزمایش شیشه‌ای منتقل شد. سپس درب لوله‌ها را با درپوش پلاستیکی بسته شده و لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه درون بن‌ماری (ریحان طب، ایران) با دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها با کمک کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شدند. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، از روش فنل-اسید سولفوریک استفاده شد. بدین منظور، 2 میلی لیتر از عصاره گیاهی استخراج شده را با 50 میکرولیتر فنل 80% وزنی (حل شده در آب مقطر) مخلوط شده و سپس 5 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ ($36/8$ نرمال) به آن اضافه شد. این مخلوط به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شده و پس از آن به مدت $20-10$ دقیقه در حمام آب گرم $30-25$ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس جذب محلول در 490 خوانده شد و با کمک منحنی استاندارد مربوطه میزان کربوهیدرات‌های محلول محاسبه شد (DuBois et al., 1956). برای رسم منحنی استاندارد از گلوکز در محدوده غلظت بین صفر تا 300 میکروگرم در میلی لیتر استفاده شد.

سنجش پروتئین‌های محلول: استخراج پروتئین‌های محلول با استفاده از بافر فسفات پتاسیم 0.1% مولار ($6/8$ pH) انجام شد. عمل عصاره‌گیری در بافت تر برگ‌های جوان تکامل یافته و با نسبت $1:3$ (1 گرم بافت برگ به 3 حجم بافر استخراج) درون حمام یخ انجام شد. سپس نمونه‌ها با سرعت 13000 دور در دقیقه به مدت 20 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. مقدار پروتئین‌های روشن‌آور با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). برای رسم منحنی استاندارد پروتئین‌ها از سرم آلبومین گاوی در محدوده غلظت صفر تا 100 میلی گرم در میلی لیتر استفاده شد.

سنجش پرولین: نیم گرم از بافت تر برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته با 10 میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید 3%

دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. به عصاره حاصل ۱۰۰ میکرولیتر کلروفورم جهت حذف کلروفیل اضافه شد. ۳ میلی لیتر از محلول زیرین را درون کووت ریخته و جذب آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر خوانده شد و با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1} \text{Cm}^{-1}$ ۳۳۰۰۰ محاسبه شد (Wagner, 1979).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی FRAP: اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان به روش FRAP (ferric reducing ability of plasma) انجام شد (Benzie and Strain, 1996). محلول واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱/۵ میلی لیتر محلول FRAP که حاوی بافر استات ۳۰۰ میلی مولار (pH ۷)، تری‌پریدیدل تریازن ۱۰ میلی مولار و کلرید آهن ۲۰ میلی مولار است. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید آسکوربیک خالص در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استفاده شد.

سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی‌الدئید (MDA) که محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع است، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری مالون‌دی‌الدئید به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تر برگ با ۵ میلی لیتر ۰/۰۱ درصد تری‌کلرو استیک اسید سائیده شد. به یک میلی لیتر از عصاره حاصل از سانتریفوژ، ۴ میلی لیتر محلول تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم حرارت داده شد سپس بلافاصله بر روی یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس شدت جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌الدئید از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ استفاده شد.

احیاء نوری می‌گردد. اختلاف جذب نمونه‌ها و کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده مهار احیای نوری NBT در حضور SOD موجود در نمونه است. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین‌های محلول بیان شد.

سنجش پراکسید هیدروژن: نیم گرم بافت تر برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد در حمام یخ سائیده و توسط سانتریفوژ یخچالدار با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. یک میلی لیتر محلول روشن‌آور با یک میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار (pH ۷) و ۲ میلی لیتر دیدید پتاسیم ۱ مولار مخلوط گردید. در نهایت جذب نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $280 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ محاسبه شد (Velikova et al., 2000).

سنجش فنل‌ها: میزان فنل‌ها با استفاده از معرف فولین اندازه‌گیری شد. (Singleton and Rossi, 1965). ۱۰۰ میلی گرم از بافت تر برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته توسط اتانول ۹۵ درصد ساییده شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری گردید. سپس نمونه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و سپس به یک میلی لیتر از عصاره، ۱/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵٪، ۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ۵۰٪ افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگهداری شدند و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. میزان فنل براساس منحنی استاندارد حاصل از اسید گالیک در محدوده غلظت صفر تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه گردید.

سنجش آنتوسیانین‌ها: به منظور سنجش مقدار آنتوسیانین‌ها، ۱۰۰ میلی گرم بافت تر برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته توسط ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵ درصد و HCl ۱۱/۷۴ نرمال به نسبت ۹۹ به ۱ میلی لیتر) به خوبی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه با سرعت ۶۰۰۰ دور در

تمام آزمایشات طبق طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام شد و برای هر تیمار چهار گلدان و هر گلدان حاوی سه گیاه در نظر گرفته شد. سنجش شاخص‌های میزان کلروفیل کل، F_v/F_m و PI_{ABS} وزن تر و خشک، و محتوی آب به‌ازای برگ در ده تکرار انجام شد. اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی در سه تکرار انجام شد. پردازش داده‌ها بوسیله نرم افزار آماری SPSS version 23 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ صورت گرفت.

نتایج

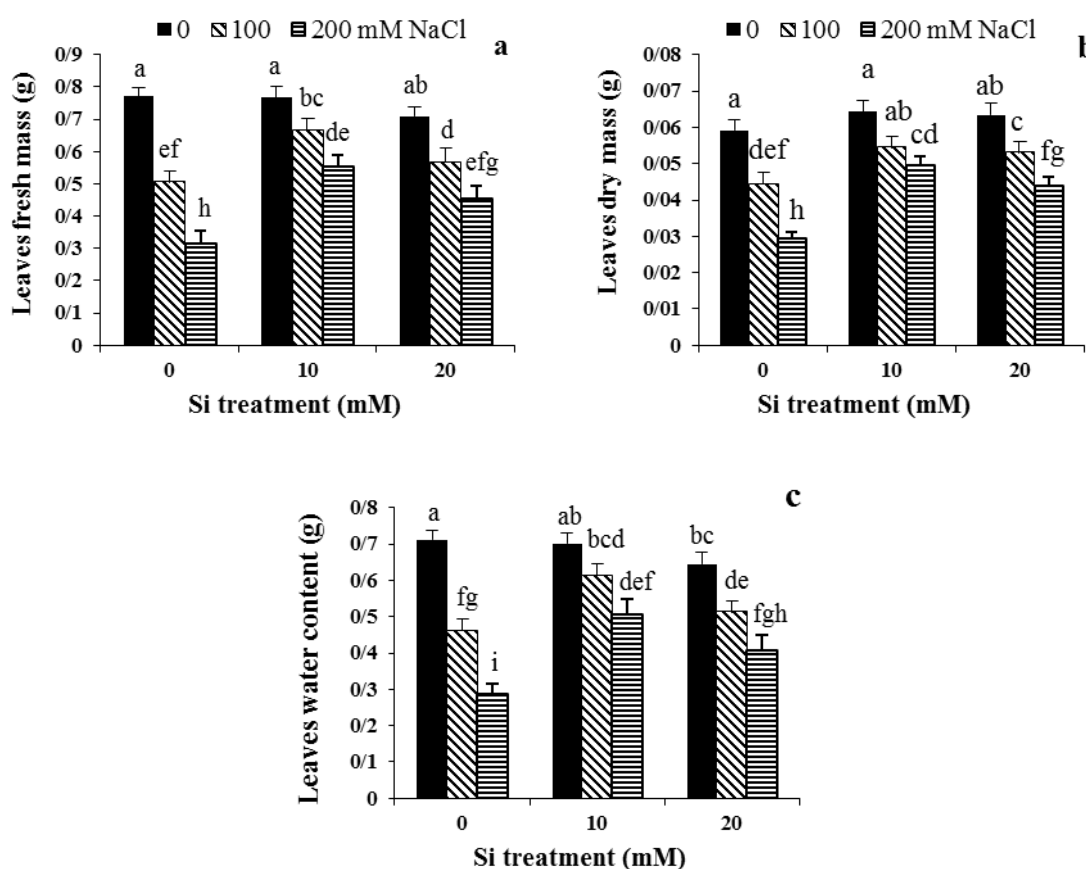
براساس نتایج بدست‌آمده از آنالیز واریانس، تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک، و محتوی آب برگ‌ها شد، درحالی‌که تیمار سیلیس سبب کاهش اثرات منفی تنش بر آنها شد (جدول ۱). کمترین میزان وزن تر و خشک برگ در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم مشاهده شد. میزان کاهش مشاهده شده در وزن تر و خشک، و محتوی آب برگ در پاسخ به تنش شوری به‌ترتیب ۶۰٪، ۵۰٪ و ۶۰٪ کمتر از گیاه شاهد بود (شکل ۱). تیمار سیلیس بدون تنش شوری سبب ایجاد تغییر معنی‌داری در رشد گیاه تربچه در مقایسه با گیاه کنترل نشد به‌طوریکه وزن تر و خشک، و محتوی آب برگ در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم تفاوت معنی‌داری با گیاهان تیمار شده با آب مقطر نشان ندادند (جدول ۱). تیمار سیلیس سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر روی وزن تر و خشک، و محتوی آب برگ‌ها در مقایسه با گیاهان تحت تنش شوری بدون تیمار سیلیس شد. تیمار ۱۰ میلی‌مولار سیلیس در مقایسه با ۲۰ میلی‌مولار سیلیس به‌طور مؤثرتری سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر روی رشد گیاه تربچه شد. در تیمار ۱۰ میلی‌مولار سیلیس توأم با ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم میزان وزن تر و خشک، و محتوی آب برگ به‌ترتیب ۲۸٪، ۱۶٪ و ۲۹٪ کمتر از گیاه شاهد بود.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تنش شوری در سطح معنی‌داری سبب کاهش میزان کلروفیل‌ها، F_v/F_m و PI_{ABS} در گیاهان شد، درحالی‌که تیمار سیلیس در سطح معنی‌داری سبب کاهش اثرات مضر شوری بر آنها شد (جدول ۱). براساس نتایج مطالعه حاضر، کمترین میزان کلروفیل برگ در گیاهان تیمار شده با ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم بدست آمد (شکل ۲a). میزان کلروفیل برگ در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم ۴۳٪ کمتر از گیاه شاهد بود. محلول‌پاشی گیاهان با غلظت‌های مختلف سیلیکات پتاسیم سبب ایجاد تفاوت معنی‌داری در میزان کلروفیل کل برگ‌های گیاه تربچه در مقایسه با گیاه شاهد نشد (جدول ۱). تیمار سیلیس سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر روی میزان کلروفیل برگ‌ها شد (جدول ۱). میزان کلروفیل برگ‌ها در گیاهان تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم توأم با ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم به‌ترتیب ۱۷٪ و ۲۰٪ کمتر از گیاه شاهد بود (شکل ۲a). اندازه‌گیری میزان فلورسانس کلروفیل‌ها نشان داد که هر دو شاخص F_v/F_m و PI_{ABS} در پاسخ به تنش شوری کاهش معنی‌داری نشان دادند (شکل b و c). میزان F_v/F_m و PI_{ABS} در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم به‌ترتیب ۱۷٪ و ۶۵٪ کمتر از گیاه شاهد بود. در پاسخ به محلول‌پاشی گیاهان با سیلیکات پتاسیم میزان F_v/F_m و PI_{ABS} تفاوت معنی‌داری را با گیاه شاهد نشان ندادند (جدول ۱). در گیاهان تیمار شده با سیلیس میزان کاهش F_v/F_m و PI_{ABS} در پاسخ به تنش شوری کمتر از میزان کاهش مشاهده در تنش شوری بدون تیمار سیلیس بود. تیمار ۱۰ میلی‌مولار سیلیس در کاهش اثرات مضر شوری مؤثرتر از ۲۰ میلی‌مولار بود. میزان F_v/F_m و PI_{ABS} در تیمار ۱۰ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم توأم با ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم به‌ترتیب ۳٪ و ۱۹٪ کمتر از گیاه شاهد بود. با توجه به کاهش شاخص‌های فتوسنتزی، میزان سنتز کربوهیدرات‌ها در پاسخ به تنش شوری در سطح معنی‌داری کاهش نشان داد (جدول ۲). کمترین میزان کربوهیدرات‌ها در برگ‌های گیاهان تیمار شده با ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسديم ملاحظه گردید و به میزان ۱۲٪ کمتر از گیاه شاهد بود (شکل

۲d). میزان کربوهیدرات‌ها در پاسخ به تیمار سیلیس تفاوت معنی‌داری با گیاه شاهد نشان نداد (جدول ۲). تیمار سیلیس باعث جلوگیری از اثرات مضر تنش شوری بر میزان جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر سیلیکات پتاسیم و کلرید سدیم بر وزن تر، وزن خشک و محتوی آب برگ، کلروفیل کل، PI_{ABS} و F_v/F_m برگ تربچه

میانگین مربعات						درجه آزادی	منبع تغییرات
PI_{ABS}	F_v/F_m	کلروفیل کل	محتوی آب برگ	وزن خشک برگ	وزن تر برگ		
۱۷۸۹ ^{ns}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۴۰۸ ^{ns}	۰/۶۱۴ ^{ns}	۰/۰۰۱۱ ^{ns}	۰/۱۳۶ ^{ns}	۲	سیلیکات پتاسیم
۱۷۵۸*	۰/۰۵۶*	۱۲۰۸*	۰/۱۱۵*	۰/۰۰۳۴*	۰/۷۰۸*	۲	کلرید سدیم
۱۷۵۱*	۰/۰۰۸*	۱۱۹*	۰/۰۰۴*	۰/۰۰۰۲*	۰/۰۴۴*	۴	سیلیکات پتاسیم × کلرید سدیم
۱۷۲۶*	۰۰۰	۵/۵۴	۰/۰۰۱	۰۰۰	۰/۰۰۱	۸۱	خطا
						۹۰	کل

^{ns} عدم وجود تفاوت معنی‌دار، * معنی‌داری در سطح ($P \leq 0/05$)

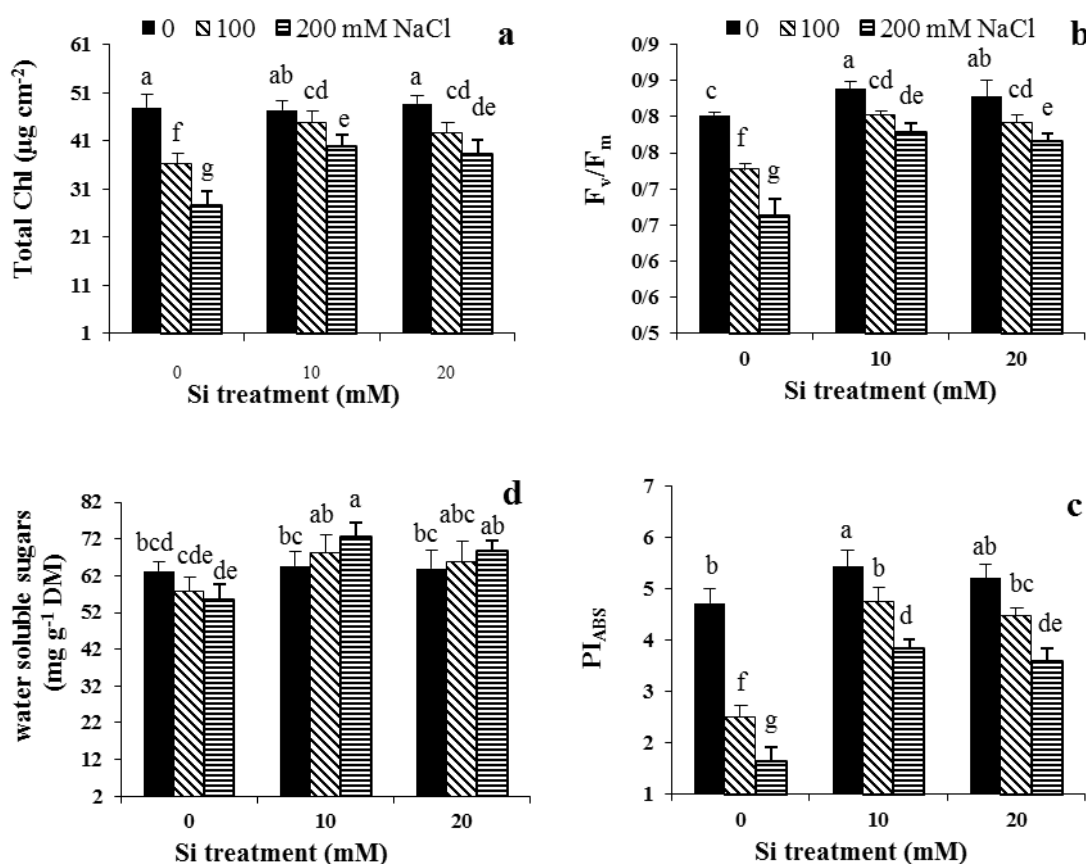


شکل ۱- مقدار وزن تر، (a) وزن خشک و (b) محتوی آب به‌ازای هر برگ تربچه تحت تأثیر سیلیکات پتاسیم در سه غلظت صفر (کنترل)، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار و تنش شوری ناشی از غلظت‌های صفر (کنترل)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی مولار سیلیکات پتاسیم توأم با ۲۰۰ بود. میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب ۱۴٪ و ۸٪ بیشتر از گیاه شاهد جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر سیلیکات پتاسیم و کلرید سدیم بر کربوهیدرات های محلول، پروتئین های محلول، پرولین، آب اکسیژنه و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز برگ تربچه

میانگین مربعات					درجه آزادی	منبع تغییرات
سوپراکسید دیسموتاز	آب اکسیژنه	پرولین	پروتئین	کربوهیدرات محلول		
۵۱/۴*	۱۱۸*	۱۶۷*	۷۱۱۰*	۳۰۸ ^{ns}	۲	سیلیکات پتاسیم
۲۶/۷*	۴۶/۱*	۱۲۶*	۴۲۶۰*	۱۱/۷ ^{ns}	۲	کلرید سدیم
۵/۱۲*	۲۵/۱*	۱۰۰*	۳۵۷*	۷۰/۶*	۴	سیلیکات پتاسیم × کلرید سدیم
۰/۲۷۲	۲/۵۸	۲/۰۸	۲۶/۳	۱۲/۱	۱۸	خطا
					۲۷	کل

^{ns} عدم وجود تفاوت معنی دار، معنی داری در سطح (P≤0/05).

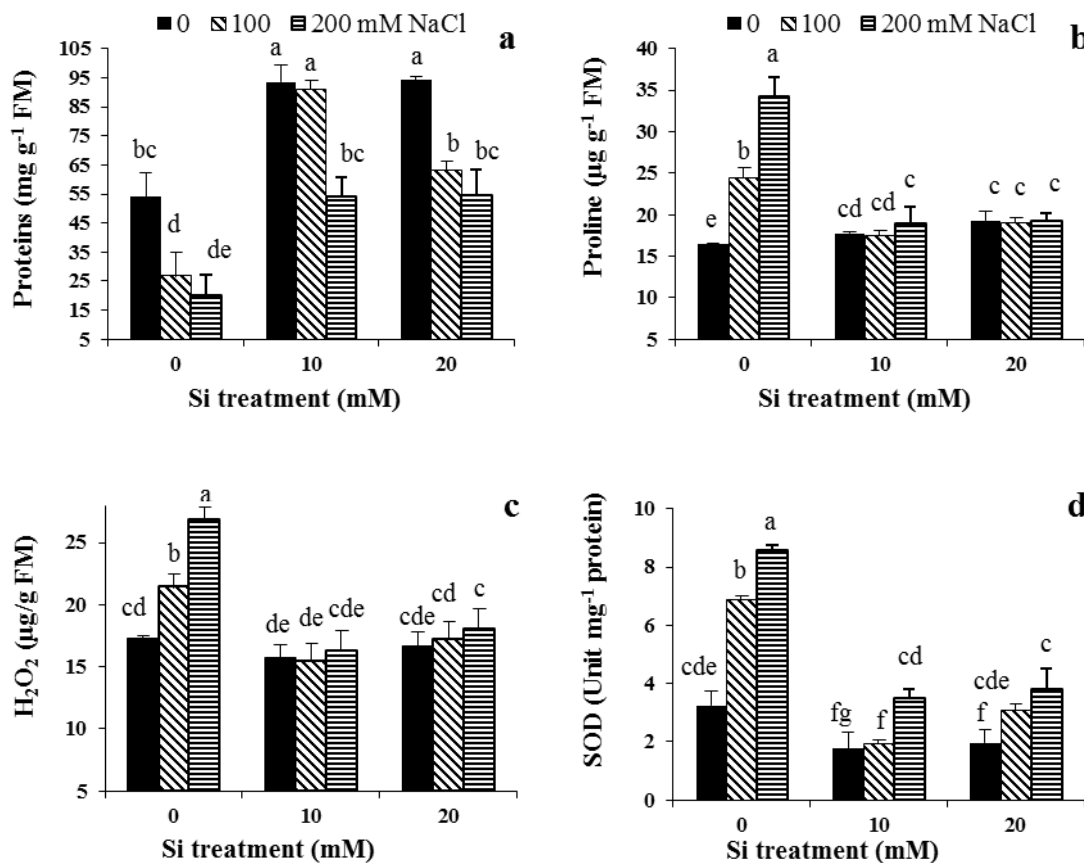


شکل ۲- (a) مقدار کلروفیل کل، (b) حداکثر بازده فتوسیستم II (F_v/F_m)، (c) بازده هر دو فتوسیستم I و II (PI_{ABS}) و (d) مقدار کربوهیدرات های محلول در آب برگ تربچه تحت تأثیر سیلیکات پتاسیم در سه غلظت صفر (کنترل)، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار و تنش شوری ناشی از غلظت های صفر (کنترل)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم. میانگین هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند

مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

کاهش داد، درحالی‌که سیلیس سبب افزایش معنی‌دار آن شد

میزان پروتئین‌های برگ گیاه تربچه را در سطح معنی‌داری



شکل ۳- (a) مقدار پروتئین‌های محلول، (b) پرولین، (c) آب اکسیژنه و (d) فعالیت سوپراکسید دیسموتاز برگ تربچه تحت تأثیر سیلیکات پتاسیم در سه غلظت صفر (کنترل)، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار و تنش شوری ناشی از غلظت‌های صفر (کنترل)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

دیسموتاز شد، درحالی‌که تیمار سیلیس سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری شد (جدول ۲). میزان پرولین برگ در پاسخ به ۱۰۰٪ و ۲۰۰٪ کلرید سدیم به ترتیب ۴۹٪ و ۱۰۰٪ بیشتر از گیاه شاهد بود (شکل ۳b). در پاسخ به تیمار ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم بدون شوری میزان پرولین برگ به ترتیب ۸٪ و ۱۸٪ بیشتر از گیاه شاهد بود. تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار توأم با ۲۰ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم میزان پرولین را به ترتیب ۱۶٪ و ۱۸٪ بیشتر از گیاه شاهد داد. نتایج نشان داد که آبیاری گیاهان با ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم

(جدول ۲). با توجه به شکل ۳a، میزان پروتئین‌های برگ تیمارهای ۱۰۰٪ و ۲۰۰٪ کلرید سدیم به ترتیب ۵۰٪ و ۶۳٪ کمتر از گیاه شاهد بود. براساس نتایج، تیمار ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم بدون شوری میزان پروتئین‌های برگ را به میزان مساوی و تقریباً ۷۳٪ بیشتر از گیاه شاهد افزایش دادند. در تیمار سیلیس توأم با ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم میزان پروتئین‌های برگ تفاوت معنی‌داری با گیاه شاهد نشان نداد. تجزیه واریانس نشان داد که تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار میزان پرولین، آب اکسیژنه و فعالیت سوپراکسید

میزان آب اکسیژنه برگ را به ترتیب ۰.۲۴٪ و ۰.۵۶٪ بیشتر از گیاه شاهد افزایش داد (شکل ۳c). در تیمار سیلیس بدون و یا توأم با تنش شوری تفاوت معنی داری در میزان آب اکسیژنه برگ ملاحظه نشد. تنش شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر سیلیکات پتاسیم و کلرید سدیم بر فنل ها، آنتوسیانین ها، ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP و مالون دی آلدئید برگ تربچه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فنل	آنتوسیانین	ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP
سیلیکات پتاسیم	۲	۸۴۳۸۴*	۰/۱۴۸*	۸۸۹*
کلرید سدیم	۲	۲۶۱۱۷*	۰/۰۹۴*	۷/۸۰*
سیلیکات پتاسیم × کلرید سدیم	۴	۱۷۴۰۳*	۰/۰۰۹*	۴۵/۰۹*
خطا	۱۸	۱۳۸	۰/۰۰۴	۶/۰۰۱
کل	۲۷			

^{ns} عدم وجود تفاوت معنی دار، معنی داری در سطح (P≤0/05).

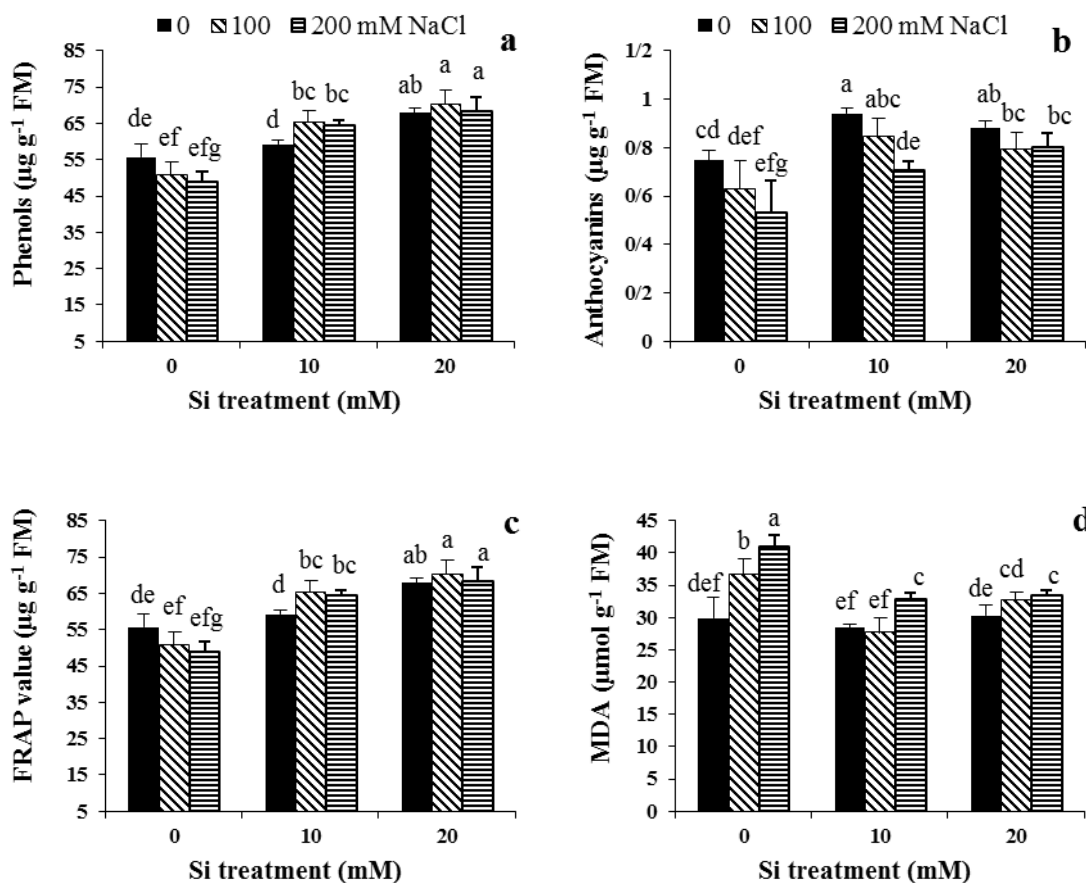
کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP شد که بیشترین میزان کاهش در آبیاری با ۲۰۰ میلی مولار و تقریباً ۰.۱۲٪ کمتر از گیاه شاهد مشاهده شد (جدول ۳، شکل ۴c). تنش شوری توأم با تیمار سیلیس سبب افزایش معنی دار ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP شد (جدول ۳). ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP در تیمار ۱۰ و ۲۰ میلی مولار سیلیکات پتاسیم توأم با ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب ۰.۱۶٪ و ۰.۲۲٪ بیشتر از گیاه شاهد بود. تجزیه واریانس نشان داد که تنش شوری سبب افزایش معنی دار میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء شد (جدول ۳). میزان مالون دی آلدئید که شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء است در گیاهان آبیاری شده با ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب ۰.۲۳٪ و ۰.۳۷٪ بیشتر از گیاه شاهد بود (شکل ۴d). در پاسخ به تیمار سیلیس بدون شوری تفاوت معنی داری در میزان مالون دی آلدئید ملاحظه نشد. در تنش شوری ۲۰۰ میلی توأم با ۱۰ و ۲۰ میلی مولار سیلیکات پتاسیم میزان مالون دی آلدئید به ترتیب ۰.۱۰٪ و ۰.۱۲٪ بیشتر از گیاه شاهد بود.

شاهد بود. در تیمار گیاهان با ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم توأم با سیلیکات پتاسیم تفاوت معنی داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با گیاه شاهد مشاهده نشد. تجزیه واریانس نشان داد که تیمار شوری سبب کاهش جزئی در میزان فنل های برگ گیاه تربچه شد، در حالیکه تیمار سیلیس توأم با تنش شوری میزان فنل های برگ را در سطح معنی داری افزایش داد (جدول ۳، شکل ۴a). مقدار فنل های برگ در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی مولار سیلیکات پتاسیم توأم با ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب ۰.۱۶٪ و ۰.۲۲٪ بیشتر از گیاه کنترل بود. میزان آنتوسیانین های برگ در پاسخ به تنش شوری در سطح معنی داری کاهش یافت (جدول ۳، شکل ۴b). بیشترین کاهش میزان آنتوسیانین ها در برگ گیاه در پاسخ به تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و تقریباً ۰.۲۹٪ کمتر از گیاه شاهد بود. تیمار سیلیس با یا بدون تنش شوری سبب افزایش میزان آنتوسیانین ها شد. بیشترین میزان افزایش در آنتوسیانین ها در تیمار ۱۰ میلی مولار سیلیکات پتاسیم به میزان ۰.۳۰٪ بیشتر از گیاه شاهد مشاهده شد. نتایج اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی FRAP گیاه نشان داد که آبیاری گیاهان با کلرید سدیم سبب

بحث

از تنش آغاز می‌شود که منجر به تأخیر در رشد گیاه می‌شود. اثرات مضر تنش شوری در گیاهان در مرحله دوم وابسته به تجمع بیش از حد یونها در سلول‌های گیاه است که می‌تواند منجر به کاهش فرآیندهای متابولیکی و در نهایت مرگ سلول

پاسخ گیاه به تنش شوری عمدتاً در دو مرحله به صورت تنش اسمزی و یونی صورت می‌گیرد. مرحله اول مربوط به تنش خشکی ناشی از یونها است و طی چند دقیقه تا چند روز پس



شکل ۴- (a) میزان فنل‌ها، (b) آنتوسیانین‌ها و (c) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی FRAP و (d) مالون دی‌آلدئید برگ تربچه تحت تأثیر سیلیکات‌پتاسیم در سه غلظت صفر (کنترل)، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار و تنش شوری ناشی از غلظت‌های صفر (کنترل)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

مقایسه با تنش شوری بدون سیلیس افزایش داد که با گزارشات محققان مبنی بر نقش سیلیس در تنظیم اسمزی گیاه مطابقت دارد (Rizwan *et al.*, 2015; Abdelaal *et al.*, 2020; Hurtado *et al.*, 2020). گزارشاتی مشابهی مبنی بر نقش سیلیس در کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاهان گندم، جو، ذرت و گوجه‌فرنگی وجود دارد (Liang, 1999; Al-aghabary *et al.*, 2005; Kaya *et al.*, 2006; Tuna *et al.*, 2008). در شرایط تنش شوری، سیلیس با کاهش جذب یون سدیم و افزایش

شود (Ibrahimova *et al.*, 2021). در مطالعه حاضر، تنش شوری سبب کاهش میزان رشد گیاه تربچه شد که در کاهش وزن تر و خشک و محتوی آب برگ گیاه منعکس است. سیلیس یکی از عناصر مفید برای گیاهان و سازگار با محیط زیست است و اثرات مفیدی در کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاهان دارد (Hurtado *et al.*, 2020). در مطالعه حاضر، تیمار سیلیس در گیاه تربچه سبب جلوگیری از اثرات مضر تنش شوری بر روی رشد گیاه شد. تیمار سیلیس گیاه تربچه محتوی نسبی آب برگ گیاهان تحت تنش شوری را در

شوری توأم با سیلیس بیشتر از تنش شوری بدون تیمار سیلیس بود. براساس گزارش Bukhat و همکاران (۲۰۲۰)، تیمار سالیسیلیک اسید از طریق کنترل سیستم انتقال در بین فتوسیستم‌ها و همچنین افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و جلوگیری از تجمع ROS در گیاهان تحت تنش شوری سبب کاهش اثرات مضر تنش بر میزان رنگیزه‌های فتوستتزی و فلورسانس کلروفیل‌ها می‌شود، که با نتایج مشاهده شده در مطالعه حاضر بر روی گیاه تربچه مطابقت دارد. در گیاهان تربچه آبیاری‌شده با کلریدسدیم میزان کربوهیدرات‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد که حاصل کاهش فعالیت فتوستتزی گیاه است، درحالی‌که سیلیس سبب افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در گیاهان تحت تنش شد. گیاهان در تنش‌های محیطی از قبیل خشکی و شوری با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می‌کنند. مواد تنظیم‌کننده اسمزی بیشتر شامل اسیدهای آمینه، قندها برخی یون‌های معدنی و پروتئین‌ها هستند (Liu et al., 2000). طبق گزارش Rizwan و همکاران (۲۰۱۵)، تیمار سیلیس با افزایش میزان تجمع اسمولیت‌هایی مانند کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری می‌شود که با نتایج مشاهده شده در گیاه تربچه مطابقت دارد. انباشت پرولین در گیاهان تحت شرایط تنش به تنظیم فشار اسمزی ناشی از افزایش بیش از حد یون‌های سمی (Cl^- و Na^+) کمک می‌کند (Munns et al., 2016). محتوی پرولین در گیاهان تربچه تحت تنش شوری افزایش معنی‌داری نشان داد که با گزارش Bukhat و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت دارد. افزایش پرولین در پاسخ به تنش شوری می‌تواند جهت تنظیم اسمزی گیاه در پاسخ به غلظت‌های بالای سدیم آب باشد (Liu et al., 2000). میزان پرولین در تیمار سیلیس تحت تنش شوری تفاوت معنی‌داری با گیاه شاهد نشان نداد که با نتایج بدست‌آمده در گیاه سورگوم مطابقت دارد (Hurtado et al., 2020). براساس گزارش Zhang و همکاران (۲۰۱۸a)، تیمار سیلیس در تنش شوری کوتاه مدت سبب ایجاد تغییر معنی‌داری در میزان پرولین گیاه *Glycyrrhiza uralensis* نشد که مطابق با نتایج مطالعه حاضر در گیاه تربچه است. عدم

جذب عنصر پتاسیم سبب کاهش اثرات مضر تنش بر روی رشدونمو گیاهان می‌شود (Rizwan et al., 2015). مطالعه فرایند فتوستتزی در پاسخ به تنش‌های محیطی دارای نقش مهمی در تعیین شدت تنش در گیاهان است (Hajihashemi et al., 2018). تنش اسمزی ناشی از شوری سبب کاهش میزان آب و کوچک‌شدن سلول می‌شود و ادامه شرایط تنش سبب کاهش تقسیم و رشد سلول‌ها و کاهش سطح برگ گیاه می‌شود که در نتیجه میزان فتوستتزی و محصولات فتوستتزی و رشد گیاه کاهش می‌یابد (Munns et al., 2006). میزان فلورسانس کلروفیل‌ها نشانگر کارایی انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها و سلامت غشای تیلاکوئیدها است (Hajihashemi et al., 2020). بنابراین کاهش مشاهده‌شده در شاخص‌های F_v/F_m و PI_{ABS} در گیاه تربچه در پاسخ به آبیاری گیاه با کلریدسدیم نشانگر اثرات منفی تنش شوری بر روی سیستم فتوستتزی گیاه است. در گیاهان آبیاری‌شده با کلریدسدیم رابطه مستقیمی بین کاهش شاخص‌های فلورسانس و میزان کلروفیل‌ها مشاهده شد. نتایج نشان داد که آبیاری گیاهان تربچه با غلظت بالای کلریدسدیم سبب کاهش توأم میزان کلروفیل‌ها و بازده کوانتومی فتوسیستم‌ها شد. تنش شوری سبب کاهش بازدهی فلورسانس کلروفیل‌ها به دلیل کاهش انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها می‌شود (Mehta et al., 2010). زمانی که گیاهان در معرض تنش قرار می‌گیرند، میزان عملکرد کوانتومی (F_v/F_m) به منظور ایجاد تعادل بین میزان انتقال الکترون فتوستتزی و متابولیسم کربن کاهش می‌یابد (Krause and Weis, 1991). تیمار سیلیس سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری بر روی میزان کلروفیل‌ها در گیاه تربچه شد درحالی‌که در تیمار سیلیس بدون شوری تغییر معنی‌داری در میزان کلروفیل‌ها مشاهده نشد که مطابق با گزارش Zhang و همکاران (۲۰۱۸b) در گیاه گوجه‌فرنگی است. همچنین، گزارشاتی مبنی بر عملکرد بهتر فتوسیستم‌ها در گیاهان تیمار شده با سیلیس در شرایط تنش وجود دارد (Zhang et al., 2018b; Rastogi et al., 2019) که مطابق با نتایج بدست‌آمده از مطالعه حاضر است، زیرا میزان F_v/F_m و PI_{ABS} در تنش

افزایش میزان پرولین در تنش شوری توأم با تیمار سیلیس می‌تواند به تجزیه پرولین به‌عنوان یک منبع تأمین‌کننده کربن و نیتروژن جهت بازیابی گیاهان از شرایط تنش، حفظ تمامیت غشای سلولی و حذف ROS مرتبط باشد (Hurtado *et al.*, 2020). میزان پروتئین‌های محلول در برگ گیاه تربچه در پاسخ به تنش شوری کاهش معنی‌داری نشان داد، درحالی‌که تیمار سیلیس سبب افزایش میزان پروتئین‌ها در پاسخ به تنش شوری شد که موافق با گزارشات سایر محققان است (Jaleel *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2013; Abbasi *et al.*, 2016; Farhat *et al.*, 2016). افزایش میزان پروتئین‌ها می‌تواند به نقش آنها در تنظیم اسمزی در شرایط تنش شوری و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرتبط باشد (Hurtado *et al.*, 2020).

تنش شوری سبب ایجاد اختلال در سیستم انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین می‌شود. بدین ترتیب تنش شوری سبب القاء تنفس نوری شده و با حرکت الکترون‌ها به سمت اکسیژن تولید آب اکسیژنه افزایش می‌یابد (Khan *et al.*, 2013). تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در پاسخ به تنش سبب آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Taibi *et al.*, 2016). تنش شوری در گیاه تربچه سبب افزایش میزان آب اکسیژنه شد و در نتیجه میزان پروتئین‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو در گیاهان است که سبب دیسموتاسیون رادیکال‌های سوپراکسید و تولید آب اکسیژنه می‌شود (Gupta *et al.*, 2018). در گیاهان تربچه آبیاری‌شده با کلرید سدیم افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ملاحظه شد که با افزایش مشاهده‌شده در میزان آب اکسیژنه هماهنگ بود. تیمار سیلیس در گیاهان تحت تنش شوری افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و تجمع آب اکسیژنه ملاحظه نشد که مطابق با گزارش Zhang و همکاران (۲۰۱۸a) است. تیمار سیلیس می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز سبب کاهش تجمع ROS در شرایط تنش

شوری در گیاه شود، درحالی‌که تفاوت معنی‌داری در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مشاهده نمی‌شود (Zhang *et al.*, 2018a). تنش شوری سبب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی FRAP در گیاه تربچه شد ولی در شوری توأم با سیلیس افزایش معنی‌داری نشان داد که توأم با کاهش میزان آب اکسیژنه بود. در گیاهان تحت تنش، نه تنها آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، بلکه آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نیز نقش مهمی در حذف رادیکال‌های سوپراکسید ایفا می‌کنند (Zhang *et al.*, 2018a). گیاهانی که برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تنش شوری، دارای سیستم آنتی‌اکسیداتی با کارایی بالا هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند و از تنش اکسیداتیو جلوگیری کنند (Taibi *et al.*, 2016). در اثر تیمار گیاه تربچه با سیلیس مقدار آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و پرولین) در سطح معنی‌داری افزایش یافتند که مانع از تجمع ROS و آسیب به غشای سلولی شدند. ترکیبات فنولی از جمله این مواد آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی محلول در آب هستند که با دادن اتم هیدروژن به ROS سبب خنثی شدن آنها در گیاهان شود (Frary *et al.*, 2010). آنتوسیانین‌ها نیز جزء ترکیبات فنولی هستند که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (He *et al.*, 2010). یکی از عواقب اصلی تجمع ROS در گیاهان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است که از طریق سنجش غلظت مالون‌دی‌الدئید اندازه‌گیری می‌شود (Taibi *et al.*, 2016). تنش شوری سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در گیاه تربچه شد، درحالی‌که تیمار سیلیس سبب جلوگیری از اثرات مضر شوری بر لیپیدهای غشاء شد که می‌تواند به دلیل نقش آن در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل گیاه و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی بررسی اثرات تیمار سیلیس در گیاه تربچه تحت تنش شوری حاکی از بهبود شاخص‌های رشد، فلورسانس و محتوی کلروفیل‌ها، بیوستز کربوهیدرات‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها،

عنوان یک عنصر سازگار با محیطزیست به منظور افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری فراهم نمود که نیاز به مطالعات بیشتر بر روی پاسخهای مولکولی گیاه دارد تا بتوان به یک نتیجه قطعی دست یافت.

و پروتئین‌ها و در نتیجه حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ممانعت از آسیب به غشاهای سلولی و در نتیجه افزایش مقاومت گیاه به غلظت بالای سدیم بود. نتایج این آزمایش زمینه را برای مطالعات بیشتر در زمینه استفاده از سیلیس به

منابع

- Abbasi, H., Jamil, M., Haq, A., Ali, S., Ahmad, R. and Malik, Z. (2016) Salt stress manifestation on plants, mechanism of salt tolerance and potassium role in alleviating it: A review. *Zemdirbyste-Agriculture* 103: 229-238.
- Abdelaal, K. A., Mazrou, Y. S. and Hafez, Y. M. (2020) Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants* 9: 733.
- Al-aghabary, K., Zhu, Z. and Shi, Q. (2005) 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.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil* 39: 205-207.
- Benzie, I. F. and Strain, J. J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- 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.
- Bukhat, S., Manzoor, H., Athar, H. U. R., Zafar, Z. U., Azeem, F. and Rasoul, S. (2020) Salicylic acid induced photosynthetic adaptability of *Raphanus sativus* to salt stress is associated with antioxidant capacity. *Journal of Plant Growth Regulation* 39: 809-822.
- Debona, D., Rodrigues, F. A. and Datnoff, L. E. (2017) Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. *Annual Review of Phytopathology* 55: 85-107.
- Deshmukh, R. K., Vivancos, J., Guerin, V., Sonah, H., Labbe, C., Belzile, F. and Belanger, R. R. (2013) Identification and functional characterization of silicon transporters in soybean using comparative genomics of major intrinsic proteins in Arabidopsis and rice. *Plant Molecular Biology* 83: 303-315.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Farhat, N., Elkhouni, A., Zorrig, W., Smaoui, A., Abdelly, C. and Rabhi, M. (2016) Effects of magnesium deficiency on photosynthesis and carbohydrate partitioning. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 145.
- Feng, J., Yamaji, N. and Mitani-Ueno, N. (2011) Transport of silicon from roots to panicles in plants. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* 87: 377-385.
- Frary, A., Gol, D., Keles, D., Okmen, B., Pinar, H., Sigva, H. O., Yemencioğlu, A. and Doganlar, S. (2010) Salt tolerance in *Solanum pennellii*: Antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology* 10: 58.
- Gregoire, C., Remus-Borel, W., Vivancos, J., Labbe, C., Belzile, F. and Belanger, R. R. (2012) Discovery of a multigene family of aquaporin silicon transporters in the primitive plant *Equisetum arvense*. *The Plant Journal* 72: 320-330.
- Gupta, D. K., Palma, J. M. and Corpas, F. J. (2018) *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. Springer.
- Hajihashemi, S., Brestic, M., Kalaji, H., Skalicky, M. and Noedoost, F. (2020) Environmental pollution is reflected in the activity of the photosynthetic apparatus. *Photosynthetica* 58: 529-539.
- Hajihashemi, S., Noedoost, F., Geuns, J. M. C., Djalovic, I. and Siddique, K. H. M. (2018) Effect of cold stress on photosynthetic traits, carbohydrates, morphology, and anatomy in nine cultivars of *Stevia rebaudiana*. *Frontiers in Plant Science* 9.
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J. and Duan, C. Q. (2010) Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* 15: 9057-9091.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Ibrahimova, U., Kumari, P., Yadav, S., Rastogi, A., Antala, M., Suleymanova, Z., Zivcak, M., Tahjib-Ul-Arif, M., Hussain, S. and Abdelhamid, M. (2021) Progress in understanding salt stress response in plants using biotechnological tools. *Journal of Biotechnology* 329: 180-191.

- Hurtado, A. C., Chiconato, D. A., Prado, R. de M., Sousa Junior, G. da S., Gratao, P. L., Felisberto, G. and Mathias dos Santos, D. M. (2020) Different methods of silicon application attenuate salt stress in sorghum and sunflower by modifying the antioxidative defense mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 203: 110964-110975.
- Jaleel, C. A., Kishorekumar, A., Manivannan, P., Saankar, B., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. (2008) Salt stress mitigation by calcium chloride in *Phyllanthus amarus*. *Acta Botanica Croatica* 67: 53-62.
- Kaya, C., Tuna, L. and Higgs, D. (2006) Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water-stress conditions. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1469-1480.
- Khan, M. I. R., Asgher, M., Iqbal, N. and Khan, N. A. (2013) Potentiality of sulphur-containing compounds in salt stress tolerance. *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer 443-472
- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A. and Lombi, E. (2019) Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International* 132: 105078.
- Krause, G. and Weis, E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Biology* 42: 313-349.
- Liang, Y. (1999) Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Plant and Soil* 209: 217.
- Liu, B., Soundararajan, P. and Manivannan, A. (2019) Mechanisms of silicon-mediated amelioration of salt stress in plants. *Plants* 8: 307.
- Liu, Q., Zhang, Y. and Chen, S. (2000) Plant protein kinase genes induced by drought, high salt and cold stresses. *Chinese Science Bulletin* 45: 1153-1157.
- Luyckx, M., Hausman, J. F., Lutts, S. and Guerriero, G. (2017a) Impact of silicon in plant biomass production: Focus on bast fibres, hypotheses, and perspectives. *Plants* 6: 37.
- Luyckx, M., Hausman, J. F., Lutts, S. and Guerriero, G. (2017b) Silicon and plants: Current knowledge and technological perspectives. *Frontiers in Plant Science* 8: 411.
- Ma, J. F. and Takahashi, E. (2002) Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan. Elsevier.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. and Bharti, S. (2010) Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 16-20.
- Mudgal, V., Madaan, N. and Mudgal, A. (2010) Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: A review. *International Journal of Botany* 6: 136-143.
- Munns, R., James, R. A., Gilliham, M., Flowers, T. J. and Colmer, T. D. (2016) Tissue tolerance: An essential but elusive trait for salt-tolerant crops. *Functional Plant Biology* 43: 1103-1113.
- Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany* 57: 1025-1043.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- Rastogi, A., Tripathi, D. K., Yadav, S., Chauhan, D. K., Zivcak, M., Ghorbanpour, M., El-Sheery, N. I. and Brestic, M. (2019) Application of silicon nanoparticles in agriculture. *3 Biotech* 9: 1-11.
- Rizwan, M., Ali, S., Ibrahim, M., Farid, M., Adrees, M., Bharwana, S. A., Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F. and Abbas, F. (2015) Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: A review. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 15416-15431.
- Singleton, V. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Taibi, K., Taibi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhdja, M. and Mulet, J. M. (2016) Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany* 105: 306-312.
- Takahashi, E., Ma, J. and Miyake, Y. (1990) The possibility of silicon as an essential element for higher plants. *Comments on Agricultural and Food Chemistry* 2: 99-102.
- Tuna, A. L., Kaya, C., Higgs, D., Murillo-Amador, B., Aydemir, S. and Girgin, A. R. (2008) Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. *Environmental and Experimental Botany* 62: 10-16.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Zhang, W., Yu, X., Li, M., Lang, D., Zhang, X. and Xie, Z. (2018a) 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.
- Zhang, Y., Yu, S., Gong, H. J., Zhao, H. L., Li, H. L., Hu, Y. H. and Wang, Y. C. (2018b) Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress. *Journal of Integrative Agriculture* 17: 2151-2159.
- Zuccarini, P. (2008) Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. *Biologia Plantarum* 52: 157-160.

The effect of silicon treatment on improving the physiological response of radish (*Raphanus sativus* L.) to salinity stress

Shokoofeh Haji Hashemi *, Amolbanin Jahan Tigh and Ibrahim Fani

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Khatam Al-Anbia University of Technology, Behbahan, Khuzestan

(Received: 24/03/2021, Accepted: 20/09/2021)

Abstract

The increasing population as well as high demand for cultivation of crops in the area with high salt concentration prompted the application of new strategies to improve plant tolerance to salinity stress. The present study was conducted to investigate the effect of potassium silicate (0, 10 and 20 mM) on reducing the harmful effect of salinity stress induced by sodium chloride (0, 100 and 200 mM) in radish. The experiment was performed as a pot experiment using a Randomized Complete Block Design with four replications. Salinity stress significantly reduced the chlorophylls content, chlorophyll fluorescence (F_v/F_m and PI_{ABS}), carbohydrates, proteins and plant biomass, while silicon treatment reduced the adverse effect of salinity stress. In response to salinity stress, proline, the activity of superoxide dismutase, H_2O_2 accumulation and membrane lipids peroxidation showed a significant increase, while the amounts of phenols, anthocyanins and FRAP antioxidant capacity of plants decreased. Silicon treatment increased phenols, anthocyanins and FRAP antioxidant capacity of salt stressed-plants, which was followed by the reduction of H_2O_2 accumulation and subsequently reduction of membrane lipids peroxidation. Based on the results of present study, it can be suggested that silicon treatment reduced the adverse effect of salinity on the growth and yield of radish plant through the improvement in chlorophylls content and fluorescence, reduction of reactive oxygen species, and increasing the antioxidants and osmotic compatible solutes.

Key words: Antioxidants, Carbohydrates, Chlorophylls fluorescence, Proline, Proteins.

Corresponding author, Email: hajihashemi@bkatu.ac.ir