

## نقش سیلیکون در کاهش تنش کمبود و سمیت آهن در کشت هیدروپونیک گیاه برنج (*Oryza sativa* L.)

زهرا کیانی چالمردی<sup>۱</sup> و احمد عبدالزاده<sup>۱\*</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۱)

### چکیده

تغذیه سیلیکون ممکن است تنش‌های زیستی و غیرزیستی، مانند کمبود و سمیت فلزات سنگین، را در گیاهان کاهش دهد. کمبود و سمیت آهن از عوامل محدودکننده رشد گیاه برنج هستند. در مطالعه حاضر، نقش سیلیکون در کاهش کمبود و سمیت آهن در گیاه برنج بررسی شده است. گیاهان در گلخانه در محیط کشت هیدروپونیک با محلول غذایی پوشیدا تحت تیمارهای آهن (صفر، ۲، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به شکل Fe-EDTA) و سیلیکون (صفر و ۱/۵ میلی‌مولار به شکل سیلیکات سدیم) کشت شدند. نتایج نشان داد که کمبود و سمیت آهن باعث کاهش وزن تر و خشک و طول گیاه شد. در نبود سیلیکون، و در نتیجه کمبود آهن، کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی گیاهان مشاهده گردید. فعالیت کاتالاز ریشه و پراکسیداز دیواره‌ای بخش هوایی گیاهان در نتیجه سمیت شدید آهن، نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. تغذیه گیاه با سیلیکون منجر به افزایش غلظت سیلیکون در گیاه و بهبود رشد در شرایط کمبود (نه عدم حضور) و سمیت آهن شد. کاربرد سیلیکون، فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی گیاه و پلی‌فنل اکسیداز در ریشه و بخش هوایی را در شرایط کمبود آهن زیاد کرد. همچنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ریشه و پلی‌فنل اکسیداز بخش هوایی در سمیت آهن افزایش یافت. این امر ممکن است تنش اکسیداتیو را در گیاه کاهش دهد. به علاوه، افزایش لیگنین در شرایط سمیت شدید آهن با تغذیه سیلیکون ممکن است جایگاه‌های جذب آهن در دیواره سلول‌های گیاه را زیاد کرده و سمیت آهن را کاهش دهد. این نتایج نشان می‌دهد که تغذیه سیلیکون، با بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش تنش اکسیداتیو، می‌تواند نقش مؤثری در کاهش کمبود و سمیت آهن داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: کمبود آهن، سمیت آهن، تنش اکسیداتیو، آنزیم کاتالاز

۱. گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ah\_ab99@yahoo.com

## مقدمه

سیلیکون در گیاهان به‌عنوان یک عنصر غیرمتحرک است که ضروری تلقی نمی‌شود، ولی برای رشد و نمو طبیعی برخی از گیاهان عالی ضروری است (۹). میزان سیلیکون در خاک ۱ تا ۴۵ درصد از وزن خشک خاک را تشکیل می‌دهد (۳۴). شکل محلول سیلیکون در خاک، اسید سیلیسیک  $[Si(OH)_4]$  است که با غلظت ۰/۱ تا ۰/۶ میلی‌مولار در خاک وجود دارد. میزان سیلیکون در گیاهان ۰/۱ تا ۱۰ درصد وزن خشک گیاه است که با برخی از عناصر ضروری پرمصرف برابری می‌کند (۱۲). گیاهان تیره گندم، دم اسب و جگن انباشته‌کننده سیلیکون هستند و برخی از آنها سیلیکون را به‌صورت فعال جذب می‌کنند (۶). آثار مفید سیلیکون در گیاهان مربوط به افزایش مقاومت آنها در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد (۲۰ و ۲۲). مکانیسم‌های اصلی که سیلیکون تنش فلزات را در گیاهان کاهش می‌دهد شامل ایجاد کمپلکس با فلزات، مهار انتقال فلزات از ریشه به بخش هوایی، حجره‌بندی یون‌های فلزی در درون گیاه و تحریک سیستم آنتی‌اکسیدان در گیاهان می‌باشد (۲۷ و ۳۲).

سیلیکون با تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مفیدی در تحمل به سمیت منگنز در گیاه خیار (۳۲)، سمیت بُر در گیاه اسفناج (۱۱) و سمیت کادمیم در بادام زمینی و ذرت (۳۱ و ۳۶) ایفا می‌کند. به‌علاوه، سیلیکون آثار کمبود پتاسیم را در گیاه سویا تخفیف می‌دهد (۲۳). سیلیکون در دیواره سلولی برگ‌های برنج به‌عنوان حلقه‌ای بین لیگنین و کربوهیدرات‌ها عمل می‌کند (۱۳). در نتیجه، کاربرد سیلیکون منجر به افزایش کمپلکس لیگنین- سیلیکون- کربوهیدرات در دیواره سلول‌های اپیدرم برنج می‌شود. کمپلکس لیگنین- سیلیکون- کربوهیدرات در دیواره سلولی جایگاه‌های جذب فراوانی برای فلزات سنگین ایجاد می‌کند (۷). با توجه به انعطاف‌پذیری این جایگاه‌ها برای اتصال با فلزات مختلف، محتمل است که آنها در حفظ غلظت مناسب آهن فعال در شرایط کمبود و یا سمیت آهن نقش داشته باشند.

آهن چهارمین عنصر فراوان در پوسته زمین است و میزان آن در خاک بین ۱ تا ۲۰ درصد است. اما غلظت آن در گیاه حدود ۰/۰۰۵ درصد ماده خشک می‌باشد (۱۰). میزان در دسترس بودن آهن در خاک و جذب آن توسط ریشه گیاه بستگی زیادی به اسیدیته، شرایط اکسید و احیایی خاک و شکل محلول آهن دارد. آهن در همه موجودات زنده به‌عنوان یک کوفاکتور مهم در مسیرهای متابولیک زیستی نقش تعیین‌کننده‌ای دارد. نقش اصلی آهن زمانی بهتر آشکار می‌شود که ناهنجاری آهن، به‌عنوان مثال کمبود آهن، با کاهش آهن محلول در خاک بروز کند که باعث زردی برگ‌های جوان در گیاهان می‌شود. زردی آهکی ناشی از کمبود آهن یکی از بیماری‌های شایع غلات و بسیاری از محصولات باغی است که در خاک‌های با اسیدیته زیاد مشاهده می‌شود. این نشانه‌ها معمولاً می‌تواند در مراحل مختلف رشد مثل جوانه‌زنی، رشد رویشی و حتی در مرحله زایشی در گیاه برنج بروز کند (۲). از طرف دیگر، افزایش غلظت آهن محلول در خاک ممکن است سمیت آهن را در گیاهان ایجاد نماید. سمیت آهن در گیاهان شایع نیست و تنها در خاک‌های غرقاب مزارع برنج به‌دلیل ازدیاد غلظت آهن دو ظرفیتی به وجود می‌آید که منجر به قهوه‌ای شدن برگ‌های مسن و کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۲۳ و ۲۴).

مکانیسم اصلی که سمیت عناصر را در گیاهان القا می‌کند، تولید گونه‌های فعال اکسیژن یا ROS می‌باشد که شامل رادیکال‌های سوپراکسید ( $O_2^-$ )، اکسیژن ( $O_2$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و هیدروکسیل ( $OH$ ) می‌باشد (۱۸). رادیکال‌های آزاد می‌توانند کلروفیل را اکسید نمایند و با ازدیاد سمیت باعث انباشتگی آهن در کلروپلاست و ایجاد اختلال در انتقال الکترون فتوسنتزی شوند. همچنین ممانعت از چرخه کلوین به‌وسیله آهن اضافی موجود در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی ممکن است باعث کاهش نسبت کربوکسیلاسیون به اکسیژناسیون در واکنش‌های روبیسکو و افزایش تنفس نوری شود (۱۵). گیاهان دارای مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی برای پالایش ROS هستند که مکانیسم آنزیمی آن شامل کاتالاز، پراکسیداز،

نظر گرفته شد (۲۴). اعمال تیمارها از هفته دوم کشت شروع شد. اسیدیته محلول غذایی تشتک‌ها به صورت روزانه بین ۵/۵ تا ۶ با اسید هیدروکلریدریک و باز هیدروکسید سدیم تنظیم گردید و در پایان هر هفته، محلول درون تشتک‌ها تعویض شد. در طول دوره آزمایش، حداکثر و حداقل دمای روز و شب در گلخانه به ترتیب ۳۲ و ۱۹ درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی ۷۴٪ بود. گیاهان پس از سه هفته تیماردهی برای بررسی رشد و تجزیه بیوشیمیایی برداشت شدند. ریشه گیاهان برداشت شده با آب مقطر شسته شده و سپس آب سطحی ریشه‌ها با دستمال کاغذی گرفته شد و سپس وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه به صورت جداگانه اندازه‌گیری شد. پس از آن، گیاهان به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند، به طوری که پس از آن هیچ‌گونه تغییر وزنی مشاهده نشود. بعد از آن، وزن خشک گیاهان اندازه‌گیری گردید. درصد نسبی آب گیاه از تقسیم کردن میزان آب گیاه بر وزن تر کل به دست آمد.

اندازه‌گیری مقدار پتاسیم در ریشه و بخش هوایی پس از تهیه خاکستر خشک گیاهان و انحلال آن در اسید کلریدریک به وسیله دستگاه فلیم‌فوتومتر JENWAY انجام گرفت. استخراج یون سیلیسیم به روش الیوت و اشنایدر (۸) و اندازه‌گیری با روش رنگ‌سنجی سگو (۳۰) انجام شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز، عصاره آنزیمی از بافت تر ریشه و بخش هوایی گیاهان با استفاده از بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ استخراج شد (۲۱). فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفوتومتری (با دستگاه Shimidzo UV-160) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش چنس و مهلی (۵) تعیین شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، آب اکسیژنه ۴۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت این آنزیم در مد سینتیک اسپکتروفوتومتر و در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش کار و میشر (۱۶) صورت گرفت. مخلوط

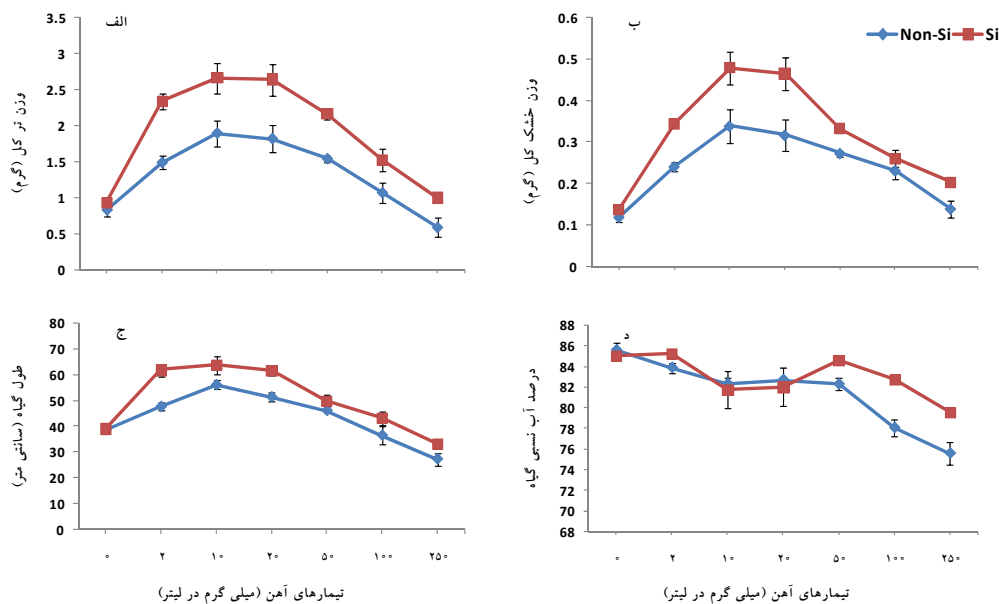
آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون ردوکتاز و مکانیسم غیر آنزیمی آن شامل گلوکاتایون، آسکوربات و کاروتنوئیدها می‌باشد (۳۵).

با توجه به نقش برنج در تغذیه انسان، پژوهش در مورد کمبود و سمیت آهن که به ترتیب در خاک‌های قلیایی و اسیدی باعث کاهش عملکرد محصول این گیاه زراعی می‌شوند، اهمیت زیادی دارد. سیلیکون ممکن است در تحمل گیاه برنج (به‌عنوان یک گیاه تجمع‌کننده سیلیکون)، در برابر تنش آهن مؤثر باشد. در حیطه اطلاعات ما، آثار سیلیکون در شرایط کمبود و سمیت آهن در هیچ گیاهی گزارش نشده است. در این مقاله، آثار سیلیکون در میزان تحمل کمبود و سمیت آهن در گیاه برنج مطالعه شده است. لذا گیاه برنج در تیمارهای مختلف آهن با و بدون سیلیکون کاشته شد و با اندازه‌گیری عواملی مانند رشد، غلظت پتاسیم و سیلیکون، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان لیگنین سعی گردید تا در صورت تخفیف کمبود و سمیت آهن با تغذیه سیلیکون در گیاه، روش‌های آن بهتر درک شود.

## مواد و روش‌ها

### شرایط کشت

بذرهای گیاه برنج (*Oryza sativa* L.)، رقم طارم، از مرکز تحقیقات برنج آمل تهیه گردید و با استفاده از الک و هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شد. بذرها برای جوانه‌زنی در داخل حوله کاغذی مرطوب در اتاقک کشت قرار گرفتند. پس از گذشت چهار روز، بذرهای جوانه زده به محیط کشت هیدروپونیک انتقال داده شدند. محلول مورد استفاده برای کشت، یوشیدا بود که براساس تیمارهای آهن و سیلیکون تعدیل شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بود. عامل آهن در هفت سطح (صفر، ۲ و ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت Fe-EDTA) و عامل سیلیکون در دو سطح (صفر و ۱/۵ میلی‌مولار به صورت  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) به گیاه داده شد. براساس مطالعات قبلی، تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن به‌عنوان شاهد در



شکل ۱. تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر صفات رشد: الف) وزن تر گیاه، ب) وزن خشک گیاه، ج) طول گیاه و د) درصد آب نسبی گیاه

واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸، گایاکول ۲۰ میلی مولار، آب اکسیژنه ۴۰ میلی مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت این آنزیم در مد سینتیک اسپکتروفوتومتر و در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز، مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر پیروگالال ۱۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده شد. فعالیت این آنزیم در مد سینتیک و در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۹). استخراج و اندازه‌گیری لیگنین به روش زایمر (۳۸) با هیدروکلریک اسید اتانولی (اتانول مطلق: اسید کلریدریک یک مولار، ۱:۱) صورت گرفت و اندازه‌گیری آن با استفاده از معرف فلوروگلوکوسینول به صورت اسپکتروفوتومتری و در طول موج ۴۸۸ نانومتر انجام شد.

وزن تر (شکل ۱-الف)، وزن خشک (شکل ۱-ب) و طول (شکل ۱-ج) گیاه شد. کمبود آهن تأثیر معنی‌داری بر میزان درصد آب نسبی گیاه نشان نداد. ولی سمیت آهن در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر آهن منجر به کاهش درصد آب نسبی گیاه شد. کاربرد سیلیکون در تمام تیمارهای آهن، به جز تیمار صفر، منجر به افزایش وزن تر و خشک کل گیاهان نسبت به گیاهان رشد یافته در تیمار فاقد سیلیکون شد. حضور سیلیکون در تیمار صفر میلی گرم در لیتر آهن تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک کل و طول گیاه نداشت (شکل ۱). کاربرد سیلیکون در تیمارهای ۲، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر آهن منجر به افزایش درصد آب نسبی گیاه شد. این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد سیلیکون توانست آثار کمبود آهن در کاهش رشد گیاه در تیمار ۲ میلی گرم در لیتر آهن و سمیت آهن در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر آهن را کم کند.

#### میزان عناصر پتاسیم و سیلیکون

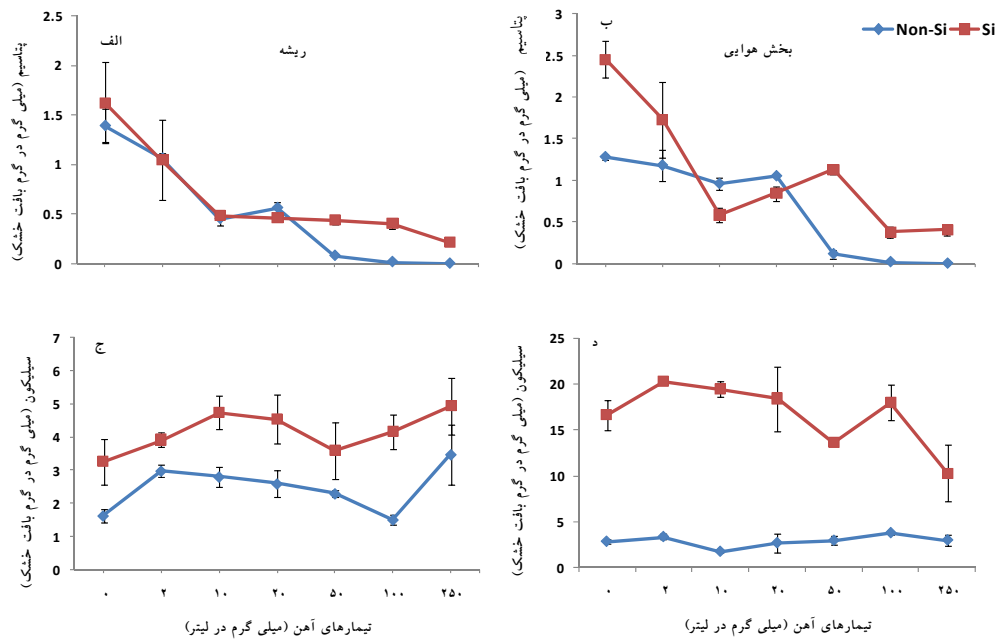
در گیاهان فاقد تیمار سیلیکون، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر آهن در میزان پتاسیم ریشه و بخش

در غیاب سیلیکون، بیشترین میزان طول و وزن تر و خشک گیاه در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر آهن مشاهده شد. کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی گرم در لیتر و افزایش آن در تیمارهای

#### نتایج

##### رشد

در غیاب سیلیکون، بیشترین میزان طول و وزن تر و خشک گیاه در تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر آهن مشاهده شد. کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی گرم در لیتر و افزایش آن در تیمارهای

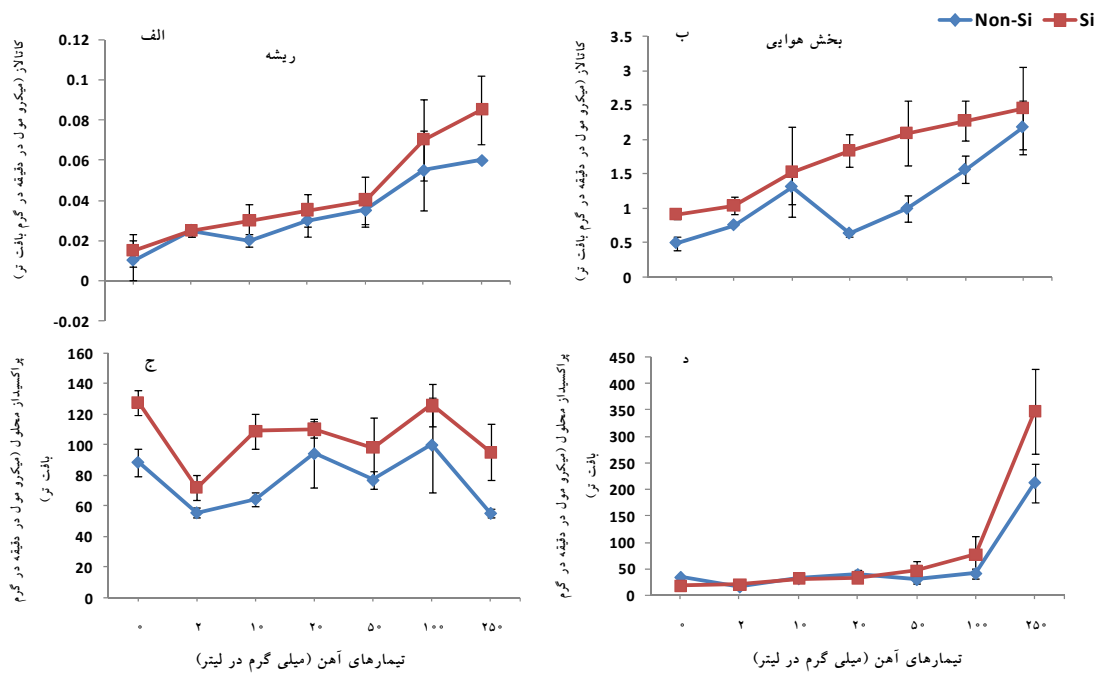


شکل ۲. تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر: الف و ب) میزان پتاسیم و ج و د) میزان سیلیکون ریشه و بخش هوایی گیاه

### میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

فعالیت آنزیم کاتالاز با کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در بخش هوایی گیاه کاهش یافت. در حالی که در ریشه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای صفر، ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده نشد. در ریشه، با افزایش میزان آهن، فعالیت این آنزیم به صورت پله‌ای افزایش یافت. ولی در بخش هوایی، کاهش فعالیت آنزیم در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و سپس تا تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن افزایش فعالیت ادامه داشت. حضور سیلیکون در ریشه تنها در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن منجر به افزایش فعالیت این آنزیم شد. ولی در بخش هوایی، افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در تمامی تیمارها، به جز تیمار ۱۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن، مشاهده شد (شکل‌های ۳-الف و ۳-ب). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول در ریشه در تیمار فاقد آهن و کاهش فعالیت این آنزیم در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده شد. اما در بخش هوایی، افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم تنها در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن

هوایی گیاه مشاهده نشد. هر چند در عدم حضور سیلیکون، فقدان آهن در محیط ریشه منجر به افزایش و سمیت آهن در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن منجر به کاهش میزان پتاسیم نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن شد (شکل ۲-الف). حضور سیلیکون منجر به افزایش معنی‌دار میزان پتاسیم در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن ریشه و بخش هوایی گیاه نسبت به گیاه فاقد سیلیکون شد. هم‌چنین حضور آن در فقدان آهن بخش هوایی گیاه منجر به افزایش میزان پتاسیم نسبت به گیاه فاقد سیلیکون شد (شکل ۲-ب). در بخش هوایی، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آهن مشاهده نشد. حضور سیلیکون در محیط کشت منجر به افزایش معنی‌دار میزان سیلیکون در ریشه و بخش هوایی گیاه در تمام تیمارهای مذکور نسبت به گیاه فاقد سیلیکون شد. به طوری که در تیمارهای صفر، ۲، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در بخش هوایی به ترتیب افزایش ۸۳/۴، ۹۱/۰، ۷۸/۲، ۷۸/۹ و ۷۰/۷ درصدی مشاهده شد (شکل‌های ۲-ج و ۲-د).



شکل ۳. تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان: الف و ب) آنزیم کاتالاز و ج و د) آنزیم پراکسیداز محلول

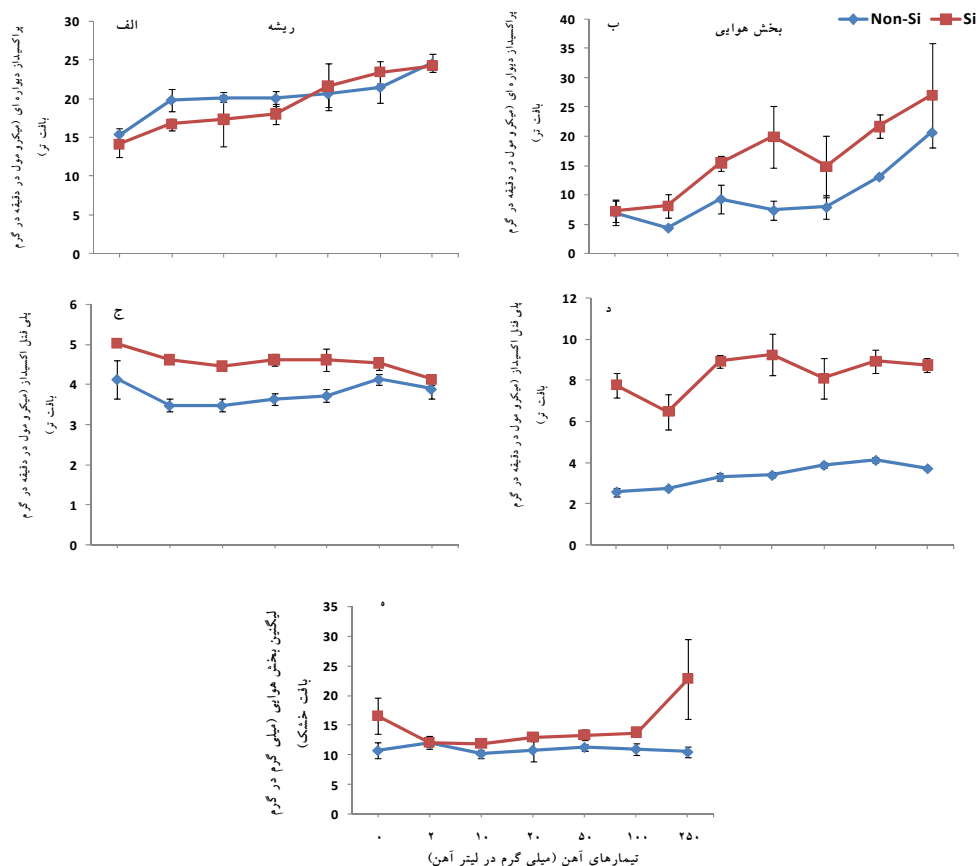
درحالی‌که حضور سیلیکون در تمامی تیمارهای آهن در ریشه و بخش هوایی، به جز تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در ریشه، منجر به افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. به طوری‌که در تیمارهای صفر، ۲، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در بخش هوایی به ترتیب افزایش ۶۶/۷، ۵۷/۵، ۶۲/۷، ۶۳/۲، ۵۲، ۵۳/۶ و ۵۷/۴ درصدی فعالیت این آنزیم نسبت به گیاه فاقد سیلیکون مشاهده شد (شکل‌های ۴-ج و ۴-د). در غیاب سیلیکون، تفاوت معنی‌داری در میزان لیگنین بخش هوایی گیاه در تمامی تیمارها نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده نشده است. درحالی‌که حضور سیلیکون منجر به افزایش معنی‌دار میزان لیگنین در تیمارهای صفر، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن نسبت به گیاهان فاقد سیلیکون شد (شکل ۴-ه).

### بحث

نتایج صفات رشدی در دوره رویشی نشان داد که بیشترین وزن و رشد بهینه در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده شد.

مشاهده شد. حضور سیلیکون در تیمارهای صفر، ۲، ۱۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در ریشه و در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن بخش هوایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول نسبت به گیاه فاقد سیلیکون شد (شکل‌های ۳-ج و ۳-د).

کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر میلی‌گرم در لیتر آهن در ریشه و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن در بخش هوایی گیاه منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز دیواره‌ای نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن شد. افزایش میزان آهن در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در ریشه و بخش هوایی منجر به افزایش فعالیت این آنزیم شد. حضور سیلیکون تنها در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن در ریشه و در تیمارهای ۲، ۱۰، ۲۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در بخش هوایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز دیواره‌ای شد (شکل‌های ۴-الف و ۴-ب). فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز با کاهش و افزایش میزان آهن تفاوت معنی‌داری را نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در ریشه و بخش هوایی نشان نداد.



شکل ۴. تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان: الف و ب) آنزیم پراکسیداز دیواره‌ای، ج و د) آنزیم پلی فنل اکسیداز و ه) میزان لیگنین در بخش هوایی

ریشه و بخش هوایی گیاه به‌عنوان آنزیم دخیل در بیوستت ترکیبات دیواره‌ای سلول مانند لیگنین و سوربین شد. به نظر می‌رسد که علی‌رغم افزایش غلظت پتاسیم و نقش مفید آن در جذب آهن، با توجه به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و دخالت آهن در فرآیندهای مهم سلول، برای مثال در تشکیل کلروفیل و رشد کلروپلاست (۲۳)، کاهش رشد گیاهان در شرایط کمبود آهن قابل توجه باشد.

سمیت آهن منجر به کاهش تدریجی و معنی‌دار رشد گیاه برنج شد. غلظت پتاسیم ریشه و بخش هوایی گیاه در شرایط سمیت آهن نسبت به تیمار شاهد (۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن) کاهش یافت. تحت شرایط سمیت شدید آهن، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه، پراکسیداز محلول بخش هوایی و پراکسیداز دیواره‌ای ریشه و بخش هوایی مشاهده شد. افزایش فعالیت پراکسیداز تحت تأثیر سمیت فلزات سنگین مانند کادمیم، روی و

کمبود آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک و طول گیاه شد. کمبود آهن سبب افزایش غلظت پتاسیم ریشه شد. به‌صورت مشابهی، نتایج بلخوجا و همکاران (۳) در گیاه هلو دچار کمبود آهن، افزایش غلظت پتاسیم را نشان داد. پتاسیم از طریق نقش مهم در تعادل کاتیون‌ها/آنیون‌ها و تسهیل حرکت اسیدهای آلی، مثل سیترات، می‌تواند بر جذب آهن مؤثر باشد (۲۳). در تک‌لپه‌ای‌ها، پتاسیم در بیوستت متیونین به‌عنوان پیش‌ساز اصلی فیتوسایدروفورها نقش دارد. به‌طوری‌که در ریشه گیاه جو دچار کمبود آهن، پتاسیم آزادسازی فیتوسایدروفورها را القا می‌کند (۲۸). اعلم و همکاران (۱) نشان دادند که افزودن پتاسیم به محلول غذایی، تنش کمبود آهن را در گیاهان کاهش می‌دهد.

کمبود آهن منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی به‌عنوان آنزیم پالایند  $H_2O_2$  و کاهش فعالیت پراکسیداز دیواره‌ای

(شکل‌های ۳ و ۴). میائو و همکاران (۲۵) نشان دادند که سیلیکون با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش میزان پراکسید هیدروژن سبب بهبود برخی از آثار ناشی از کمبود پتاسیم در گیاه سویا می‌شود. با توجه به موارد فوق، سیلیکون با کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود جذب پتاسیم، آثار کمبود آهن را کاهش داد، ولی در شرایط فقدان آهن تأثیری ندارد.

حضور سیلیکون تحت شرایط سمیت آهن نیز منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بخش‌هوایی و آنزیم پراکسیداز محلول ریشه و بخش‌هوایی گیاه شد (شکل‌های ۳ و ۴). سیلیکون تنش فلزات را با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان کاهش داد (۲۷ و ۳۲). به طوری که تحت تأثیر سمیت کادمیم منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد (۳۱). آثار مفید سیلیکون به دلیل ته‌نشینی آن در دیواره‌های سلولی ریشه‌ها، برگ‌ها و ساقه‌ها می‌باشد (۲۲). سیلیکون بعد از جذب توسط ریشه، به بخش‌هوایی گیاه انتقال می‌یابد و روی دیواره سلول‌ها به صورت پلیمر هیدراته، سیلیکای بی‌شکل، لایه دوتایی سیلیکا- کوتیکول و لایه دوتایی سیلیکا- سلولز در سطح برگ و ساقه ته‌نشین می‌شود و از شدت تعرق می‌کاهد (۲۲). به علاوه، حضور سیلیکون در آندودرم ریشه ممکن است جذب اپوپلاستی آب و برخی یون‌ها را کاهش دهد (۱۷). حضور سیلیکون منجر به افزایش میزان لیگنین در برگ‌های گیاهان تحت شرایط سمیت آهن شد (شکل ۴). لیگنین مخلوطی از ترکیبات فنلی است که بیشتر از سه مونومر هیدروکسی سینامیل الکل (مونولیگنول‌ها) تشکیل شده است. کاربرد سیلیکون منجر به افزایش کمپلکس لیگنین- کربوهیدرات در دیواره سلولی سلول‌های اپیدرمی برنج می‌شود که جایگاه‌های جذب فراوانی برای فلزات سنگین (۷) (احتمالاً از جمله آهن) ایجاد می‌کند (۱۴). لهدا، سیلیکون با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و لیگنین موجود در دیواره سلولی در کاهش تنش ناشی از سمیت آهن دخیل است.

آهن گزارش شده است (۲۴، ۳۳ و ۳۷). تنش آهن در گیاهان با ایجاد انواع اکسیژن‌های فعال همراه است که تنش اکسیداتیو را در گیاه القا می‌کند (۲۶). در شرایط طبیعی، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بخش‌های مختلف یاخته‌های گیاهان ایجاد می‌شوند (۴). اما در شرایط تنش آهن، فرآیندهای سم‌زدایی به صورت ناقص انجام می‌گیرد. عدم خنثی‌شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش پراکسید هیدروژن در گیاه منجر به افزایش واکنش‌های فنتون و هابروایس می‌گردد که طی آنها رادیکال خطرناک هیدروکسیل تولید می‌شود و می‌تواند به صورت پی در پی انواع ماکرومولکول‌های زیستی، از جمله لیپیدها و پروتئین‌ها، را ناپایدار کند. گیاهان مکانیسم آنزیمی و غیرآنزیمی را برای پالایش انواع اکسیژن فعال به کار می‌بندند. مکانیسم آنزیمی آنها شامل کاتالاز (CAT)، پراکسیدازها (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و مکانیسم غیرآنزیمی آنها شامل گلوکاتایون، آسکوربات و کاروتنوئید می‌باشد (۳۵). این نتایج آشکار می‌سازد که در شرایط سمیت آهن، با وجود افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گیاه نتوانسته آثار زیان‌بار ناشی از این تنش را کاهش دهد و این امر منجر به کاهش رشد تدریجی گیاهان با افزایش غلظت آهن در محیط ریشه می‌شود.

حضور سیلیکون، تأثیر معنی‌داری در غلظت پتاسیم ریشه تحت شرایط کمبود آهن نداشت، ولی در بخش‌هوایی منجر به افزایش پتاسیم در صورت نبود آهن شد (شکل ۲). افزایش غلظت پتاسیم با کاربرد سیلیکون نشان می‌دهد که احتمالاً سیلیکون با افزایش فعالیت ATPase ها و در نتیجه بهبود عملکرد غشا توانسته جذب پتاسیم را افزایش دهد (۱۹). افزایش میزان پتاسیم با تغذیه سیلیکون ممکن است یکی از راه‌های افزایش جذب آهن و در نتیجه کاهش تنش ناشی از کمبود آهن باشد. حضور سیلیکون تحت شرایط کمبود آهن منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز بخش‌هوایی، آنزیم پراکسیداز محلول ریشه و آنزیم‌های پراکسیداز دیواره‌ای و پلی‌فنل اکسیداز ریشه و بخش‌هوایی گیاه شد



## نتیجه گیری

کاهش سمیت آن دخیل باشد. بنابراین، تغذیه سیلیکون هم در شرایط کمبود و هم در حالت سمیت آهن، در بهبود رشد گیاه مؤثر است، درحالی که در فقدان آهن تأثیری ندارد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سیلیکون کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از ازدیاد فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز دیواره ای بخش هوایی، پراکسیداز محلول ریشه و پلی فنل اکسیداز ریشه و بخش هوایی و افزایش میزان پتاسیم آثار زیان بار کمبود آهن را تخفیف داد و سبب بهبود رشد گیاه برنج شد. از طرف دیگر، کاربرد سیلیکون در شرایط سمیت آهن نیز فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد و احتمالاً تنش اکسیداتیو را کم کرد. به علاوه، سیلیکون با افزایش لیگنین ممکن است در افزایش جایگاه های جذب آهن در دیواره سلولی و

## سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه گلستان و ریاست محترم دانشکده علوم برای فراهم آوردن امکانات پژوهشی و بودجه لازم برای دانشجوی کارشناسی ارشد زهرا کیانی چلمردی سپاسگزاری می شود. هم چنین نویسندگان از زحمات سرکار خانم مقدم برای مساعدت در کارهای آزمایشگاهی تشکر می نمایند.

## منابع مورد استفاده

1. Alam, S., M. H. Rahman, S. Kamei and S. Kawai. 2002. Alleviation of manganese toxicity and manganese- induced iron deficiency in barley by additional potassium supply in nutrient solution. *Soil Sci. Plant Nutr.* 48: 387-392.
2. Becker, M. and F. Asch. 2005. Iron toxicity in rice-conditions and management concepts. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168: 558-573.
3. Belkhdja, R., F. Morales, M. Sanz, A. Abadia and J. Abadia. 1998. Iron deficiency in peach trees: Effects on leaf chlorophyll and nutrient concentrations in flowers and leaves. *Plant Soil* 203: 257-268.
4. Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Sci.* 89: 1113-1121.
5. Chance, B. and A. C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol.* 11: 764-775.
6. Currie, H. A. and C. C. Perry. 2007. Silica in plants: Biological, biochemical and chemical studies. *Ann. Bot.* 100: 1383-1389.
7. Da Cunha, K. P. V. and C.W.A. Do Nascimento. 2009. Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize (*Zea mays* L.) grown on cadmium and zinc enriched soil. *Water, Air, Soil Pollut.* 197: 323-330.
8. Elliott, C. L. and G. H. Snyder. 1991. Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1118-1119.
9. Epstein, E. and A. J. Bloom. 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. 2<sup>nd</sup> ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA.
10. Graham, R. D. and R. M. Welch. 2000. Plant food micronutrient composition and human nutrition. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31: 1627-1640.
11. Gunes, A., A. Inal, E. G. Bagci, S. Coban and D. J. Pilbeam. 2007. Silicon mediates changes to some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown under B toxicity. *Sci. Hort.* 113: 113-119.
12. Hodson, M. J., P. J. White, A. Mead and M. R. Broadley. 2005. Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Ann. Bot.* 96: 1027-1046.
13. Inanaga, S. and A. Okasaka. 1995. Calcium and silicon binding compounds in cell walls of rice shoots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 41: 103-110.
14. Inanaga, S., A. Okasaka and S. Tanaka. 1995. Does silicon exist in association with organic compounds in rice plant? *Soil Sci. Plant Nutr.* 41: 111-117.
15. Kampfenkel, K. and V. Montagu. 1995. Effects of iron excess on *Nicotiana plumbaginifolia* plants (implications to oxidative stress). *Plant Physiol.* 107: 725-735.
16. Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57: 315-319.
17. Kidd, P. S., M. Llugany, B. Gunse and J. Barcelo. 2001. The role of root exudates in aluminum resistance and

- silicon induced amelioration of aluminum toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). J. Exp. Bot. 52: 1339-1352.
18. Laspina, N. V., M. D. Groppa, M. L. Tomaro and M. P. Benavides. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Sci. 169: 323-330.
  19. Liang, Y. C. 1999. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. Plant Soil 209: 217-224.
  20. Liang, Y., W. Sun and Y. G. Zhu. 2007. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. Environ. Pollut. 147: 422-428.
  21. Liu, X. and B. Huang. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. Crop Sci. 40: 503-510.
  22. Ma, J. F. and N. Yamaji. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends Plant Sci. 11: 392-397.
  23. Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2<sup>nd</sup> ed., Academic Press, New York, pp. 313-323.
  24. Mehraban, P., A. Abdol Zadeh and H. R. Sadeghipour. 2008. Iron toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) under different potassium nutrition. Asian J. Plant Sci. 7: 251-259.
  25. Miao, B. H., X. G. Han and W. H. Zhang. 2010. The ameliorative effect of silicon on soybean seedlings grown in potassium-deficient medium. Ann. Bot. 105: 967-973.
  26. Mithofer, A., B. Schulze and W. Boland. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: Evidence for common signals. FEBS Lett. 566: 1-5.
  27. Neumann, D. and U. Zur Nieden. 2001. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. Phytochemistry. 56: 685-692.
  28. Neumann, G. and V. Romheld. 2001. The release of root exudates as affected by the plant physiological status. PP. 41-94. In: Pinton, R., Z. Varanini and P. Nannipieri (Eds.), The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface, CRC Press.
  29. Resende, M. L. V., G. B. A. Nojosa, L. S. Cavalcant, M. A. G. Aguilar, L. H. C. P. Silva, J. O. Perez, G. C. G. Andrade, G. A. Carvalho and R. M. Castro. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). Plant Pathol. 51: 621-628.
  30. Sego, R. D. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties, 2<sup>nd</sup> ed. pp. 105-111.
  31. Shi, G., Q. Cai, C. Liu and L. Wu. 2010. Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. Plant Growth Regul. 61: 45-52.
  32. Shi, Q. H., Z. Y. Bao, Z. J. Zhu, Y. He, Q. Q. Qian and J. Q. Yu. 2005. Silicon mediated alleviation of Mn toxicity in *Cucumis sativus* in relation to activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. Phytochemistry. 66: 1551-1559.
  33. Sinha, S. and R. Saxena. 2006. Effect of iron on lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. Chemosphere 62: 1340-1350.
  34. Sommer, M., D. Kaczorek, Y. Kuzyakov and J. Breuer. 2006. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes— A review. J. Plant Nutr. Soil Sci. 169: 310-329.
  35. Tiryakioglu, M., S. Eker, F. Ozkutlu, S. Husted and I. Cakmak. 2006. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. J. Trace Elem. Med. Biol. 20: 181-189.
  36. Vaculik, M., A. Lux, M. Luxova, E. Tanimoto and I. Lichtscheidl. 2009. Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. Environ. Exp. Bot. 67: 52-58.
  37. Zhao, Z. Q., Y. G. Zhu, R. Kneer and S. E. Smith. 2005. Effect of zinc on cadmium toxicity-induced oxidative stress in winter wheat seedlings. J. Plant Nutr. 28: 1947-1959.
  38. Zimmer, M. 1999. Combined methods for the determination of lignin and cellulose in leaf litter. Sci. Soils 4: 20-32.