نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵، ص. ۱۴۳-۱۳۳

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 14, No. 1, Spring. 2016, p. 133-143

بررسی تأثیر سیلیس بر بهبود تحمل به تنش شوری کلرید سدیم در یونجه یک‌ساله (*Medicago scutellata* L.)

مایا عزیزی[۱]- احمد عبدل زاده[۲]*- پویان مهربان جوبنی[۳]- حمیدرضا صادقی پور[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۱۲

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سیلیکون در افزایش تحمل به شوری کلرید سدیم گیاه یونجه طراحی شده است. گیاهان در محیط کشت شنی در گلخانه کاشته شدند. محلول غذایی مورد استفاده هوگلند بود که براساس تیمارهای آزمایش تعدیل شد. آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و با دو عامل انجام شد. فاکتور شوری شامل دو سطح صفر، ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و فاکتور سیلیکون شامل سه سطح صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون به‌صورت سیلیکات سدیم بود. نتایج نشان داد که شوری رشد گیاهان را کم کرد و تغذیه سیلیکون به‌ویژه در سطح ۱/۵ میلی‌مولار سبب بهبود رشد و افزایش وزن تر و خشک کل گیاهان شد. شوری موجب افزایش میزان سدیم و کاهش پتاسیم شد، درحالی‌که تیمار سیلیسیم به‌ویژه در سطح ۱/۵ میلی‌مولار موجب کاهش سدیم و افزایش یون پتاسیم شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت شوری کاهش و محتوی پراکسیدهیدروژن و میزان پراکسیداسیون لیپید و نشت الکترولیت‌ها از غشاهای زیستی افزایش یافت، درحالی‌که سیلیکون موجب ازدیاد فعالیت این آنزیم در گیاهان تحت شوری شده و محتوی پراکسیدهیدروژن را کم کرد. میزان پراکسیداسیون لیپید و نشت الکترولیت‌ها این نتایج آشکار می‌سازد که سیلیکون احتمالاً با کاهش میزان سدیم و افزایش پتاسیم در سطح ۱/۵ میلی‌مولار موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش تنش اکسیداتیو شد، این امر منجر به افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارآمدی بیشتر غشاهای زیستی در گیاهان تحت شوری گردید. به این‌ترتیب کاربرد سیلیکون موجبات افزایش تحمل تنش شوری گیاه یونجه یک‌ساله را فراهم کرد.

واژه‌های کلیدی: تخفیف تنش شوری، سیلیکون، یونجه یک ساله

مقدمه

شوری یکی از عوامل مهم کاهش‌دهنده رشد گیاهان در بسیاری از مناطق جهان است. وسعت خاک‌های شور در ایران حدود ۲۳/۵ میلیون هکتار است که معادل ۱۴/۲ درصد از اراضی کل کشور است (۱ و ۲۷). از آن جایی‌که تولیدات دامی ۴۰ درصد کل ارزش ناخالص تولیدات بخش کشاورزی ایران را به‌خود اختصاص داده است و بیشتر وابسته به علوفه حاصل از مراتع می‌باشد، اصلاح مراتع شور و لب‌شور در تعلیف احشام اهمیت زیادی دارد (۲). شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که اثرات متعددی در گیاهان دارد. اثرات اولیه آن شامل کمبود آب ناشی از کاهش جذب آب و سمیت یونی ناشی از تجمع عناصر سدیم و کلر است که خود منجر به بسیاری اثرات ثانویه از جمله تنش اکسیداتیو می‌شود. به‌هم خوردن تعادل تولید و تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن منجر به تجمع آنها شده و اثرات زیان‌بار تنش شوری را تشدید می‌کند. گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور بالقوه دارای پتانسیلی است که با بسیاری از ترکیب‌های سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شود (۹)، بنابراین میزان آن باید در سلول کنترل شود. گیاهان با دارا بودن سیستم آنتی‌اکسیدانی که شامل ترکیب‌های آنزیمی (سوپر-اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و غیره) و غیرآنزیمی (اسید آسکوربیک، کارتنوئید، گلوتاتیون) است، معمولاً سطوح گونه‌های فعال اکسیژن را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند (۶).

سیلیکون بعد از اکسیژن دومین عنصر فراوان در روی زمین است. علی‌رغم فراوان بودن این ماده در سطح زمین به دلیل همراه بودن آن با سایر عناصر از دسترس گیاه خارج بوده و گیاهان تنها قادر به استفاده از فرم اسید سیلیسلیک آن می‌باشند. هرچند این عنصر برای

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گلستان
۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان
۳- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان
(*- نویسنده مسئول: Email: ah_ab99@yahoo.com)

گیاهان ضروری نیست، ولی اثرات مفیدی در جهات افزایش مقاومت به برخی از تنش‌های محیطی در گیاهان دارد (۱۴). گزارشات متعددی حاکی از آن است که سیلیکون باعث افزایش رشد گیاهان تحت تنش شوری می‌شود. در مطالعات اثرات سیلیسیم بر روی گیاه جو توسط لیانگ و همکاران (۱۸) و احمد و همکاران (۵) در گیاه گندم (*Triticum aestivum*) بهبود رشد این گیاهان تحت شوری با تغذیه سیلیسیم گزارش شده است. همچنین هاشمی و همکاران (۱۶) و فرشیدی و همکاران (۱۵) افزایش رشد گیاه کلزا (*Brassica napus*) تحت تنش شوری را تغذیه سیلیکون گزارش داده‌اند. گزارش شده است که سیلیکون با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش تنش اکسیداتیو ممکن است منجر به افزایش مقاومت به شوری شود (۱۴ و ۱۷). هرچند در حیطه اطلاعات ما، در ارتباط با اثر تغذیه سیلیکون در گیاهان مرتعی مانند یونجه (*Medicago spp.*) که به‌طور طبیعی در مراتع و نیز کشت‌زارها با تنش شوری دست به گریبان هستند، اطلاعاتی اندکی در دست است.

یونجه از با اهمیت‌ترین گیاهان علوفه‌ای محسوب می‌شود که به‌واسطه ویژگی‌های با ارزشی نظیر دامنه تحمل وسیع به شرایط محیطی، تولید علوفه بالا و باکیفیت عالی، سطح زیر کشت زیادی دارد، به‌طوری‌که تا اواخر قرن بیستم در جهان بیش از ۳۲ میلیون هکتار زیر کشت آن قرار داشته است. یونجه نقش مهمی در تأمین خوراک دام داشته و از آن به‌صورت علوفه خشک، سیلو و نیز اصلاح و احیای مراتع سردسیری و تبدیل دیم‌زارهای پرشیب و کم بازده استفاده می‌شود. یونجه از نظر مواد غذایی بسیار غنی است و غذای خوبی برای انسان و حیوانات است (۲). یونجه سرشار از ویتامین‌های A، C، E و K و همچنین دارای ۳۰ درصد پروتئین می‌باشد. میزان پروتئین در یونجه‌های یک‌ساله برابر یا بیشتر از یونجه‌های چندساله می‌باشد (۲ و ۳). از لحاظ مقاومت به شوری یونجه خوراکی[1] به‌عنوان گیاهی نسبتاً حساس به شوری طبقه‌بندی می‌شود که سطح آستانه تحمل آن ۲ دسی‌زیمنس بر متر است (۸). این گیاه در هدایت الکتریکی ۳، ۴/۹ و ۸/۲ به‌ترتیب در حدود ۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد کاهش رشد دارد (۴). واضح است که اعداد حسب گونه‌ها و ارقام مختلف تغییر می‌کند.

این آزمایش با هدف بررسی اثرات کاربرد سیلیکون در تخفیف تنش شوری در گیاه یونجه یک‌ساله[2] به اجرا درآمد. لذا گیاهان در دو تیمار شوری در سه سطح سیلیکون کاشته شده و رشد، غلظت برخی عناصر، میزان فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مقدار کلروفیل، پروتئین محلول، پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید در آنها اندازه‌گیری شد، تا راه‌های آسیب تیمار شوری و مسیرهای احتمالی افزایش تحمل آن با تغذیه سیلیسیم بهتر درک شود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از بذر گیاه یونجه یک‌ساله (یونجه حلزونی) که از ایستگاه تحقیقاتی چپرقویمه (واقع در شمال استان گلستان) تهیه شده بود، استفاده شد. بذرها پس از ضدعفونی در گلخانه در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد تقریبی ۱۵×۱۵×۱۰ که محتوی شن کاملاً شسته شده بود، کشت شدند. گیاهچه‌های سبز شده تُنک شده و سه گیاهچه در هر گلدان حفظ شد. آبیاری و تغذیه بوته‌ها تا مرحله دوبرگی و به مدت ده روز به‌وسیله محلول هوگلند تعدیل شده و پس از آن مطابق تیمارهای ذیل انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. عامل اول شوری در دو سطح شاهد (صفر میلی‌مولار) و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و عامل دوم، سیلیکون (به‌صورت سیلیکات‌سدیم) در سه سطح صفر، ۰/۷۵، ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون همراه با بود. تیمار شوری به‌صورت تدریجی (روزانه ۲۵ میلی‌مولار کلریدسدیم) اعمال شد. جهت ثابت نگه داشتن غلظت شوری موردنظر در شن، گیاهان در روز دو تا سه بار با محلول غذایی (هر بار ۲۰۰ سی‌سی) آبیاری شدند و برای جلوگیری از تجمع نمک، گلدان‌ها هفته‌ای یک بار با محلول غذایی فراوان حسب تیمارهای مختلف آبیاری شدند. برای تهیه محلول غذایی از آب تصفیه شده با اسمز معکوس و برای تهیه محلول‌های استوک محلول غذایی از آب مقطر استفاده شد. میانگین درجه حرارت محیط گلخانه در طی دوره آزمایش در شب ۲۱ و در روز ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۷ درصد بود. اسیدیته محلول غذایی توسط هیدروکسید پتاسیم و اسید سولفوریک در حد ۶/۴ تنظیم شد. گیاهان چهار هفته پس از شروع تیمارها در مرحله قبل از غنچه‌دهی (شش تا هفت برگی) برداشت شدند. سنجش صفات رشد گیاهان در ۱۰ تکرار و سنجش سایر صفات شامل غلظت یون‌ها، فعالیت آنزیم‌ها و میزان کلروفیل و پروتئین در ۴ تکرار انجام شد. وزن تر اندام هوایی و ریشه بلافاصله اندازه‌گیری شد و بعد از خشک نمودن نمونه‌ها در آون نیز وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. درصد نسبی آب گیاه براساس وزن خشک از تقسیم نمودن وزن آب گیاه به وزن تر آن محاسبه شد. بخشی از نمونه‌های بافت تر بلافاصله بعد از برداشت در ورقه‌های آلومینیومی قرار داده شده و برای سنجش‌های بیوشیمیایی در نیتروژن مایع منجمد شد. استخراج سیلیسیم از بافت خشک به روش هضم اتوکلاوی و و با روش الیوت و سیندلر (۱۳) انجام گرفت. سنجش سیلیکون در عصاره‌های به دست آمده نیز به کمک روش رنگ‌سنجی سگو (۲۴) انجام شد. اندازه‌گیری میزان سدیم و پتاسیم به‌وسیله دستگاه فلیم-فتومتر جنوی پس از تهیه خاکستر خشک نمونه‌ها در کوره الکتریکی و انحلال آنها در اسید کلریدریک رقیق انجام گرفت. مقدار عناصر

1- *Medicago sativa*
2- *Medicago scutellata*

کلسیم و آهن در عصاره مشابه با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شیمادزو مدل AA-۷۰۰۰ اندازه‌گیری شد. ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با استفاده از روش چنس و مهلی (۱۲) صورت گرفت. اندازه‌گیری میزان کلروفیل به روش آرنون (۷) انجام شد. میزان پروتئین محلول کل طبق روش برادفورد (۱۱) سنجیده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی استفاده گردید. اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن بر طبق روش سرگیو و همکاران (۲۵) انجام شد. سنجش پراکسیداسیون لیپید با استفاده از اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید انجام شد. اندازه‌گیری نفوذپذیری غشا (نشت الکترولیت) به روش بلوم و ابرکون (۱۰) با استفاده از قطعات مساوی از بافت تازه بخش هوایی و با استفاده از آب دو بارتقطیر و سنجش هدایت الکتریکی قبل و بعد از اتوکلاو انجام گرفت. محاسبه داده‌ها و رسم نمودارها در نرم‌افزار اکسل و تجزیه واریانس، بررسی اثرات ساده و متقابل عوامل و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

شوری سبب کاهش معنی‌دار رشد گیاهان شد که در کاهش وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاهان منعکس است. در مقابل تغذیه سیلیکون سبب افزایش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی و ریشه در گیاهان با و بدون تیمار شوری گردید. به علاوه، شوری درصد آب نسبی گیاهان را کاهش داد، ولی تیمار سیلیکون درصد آب نسبی را در گیاهان تحت شوری افزایش داد. در بخش هوایی گیاهان تحت شوری، تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار سیلیکون اثر معنی‌داری نداشت و تنها در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار سیلیکون افزایش وزن صورت گرفت، هرچند که با افزایش سیلیکون وزن تر و خشک ریشه گیاهان تحت شوری به‌صورت تدریجی زیاد شد. این نتایج آشکار می‌سازد که سیلیکون موجب تخفیف اثرات شوری شده است که در افزایش وزن تر بخش هوایی و ریشه و درصد آب نسبی گیاهان تحت شوری منعکس است (جدول ۱).

شوری موجب افزایش غلظت یون سدیم و کاهش یون‌های پتاسیم و کلسیم در ریشه و بخش هوایی گیاه شد. شوری در غلظت آهن بافت بوته‌ها تأثیری نداشت. تغذیه سیلیکون به‌ویژه در سطح ۱/۵ میلی‌مولار موجب کاهش غلظت یون سدیم ریشه و بخش هوایی و افزایش یون پتاسیم و آهن در گیاهان تحت تیمارهای شوری شد. کاربرد سیلیکون در گیاهان فاقد تیمار شوری سبب کاهش غلظت یون کلسیم شد، اما غلظت یون پتاسیم و آهن را افزایش داد (جدول ۲).

در گیاهان فاقد تیمار سیلیکون، شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز هر دو بخش ریشه و اندام هوایی و گایاکول-پراکسیداز محلول اندام هوایی شد. کاربرد سیلیکون موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز محلول در ریشه و اندام هوایی گیاهان تحت شوری شد. شوری و کاربرد سیلیکون تأثیر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نداشت (شکل ۱).

جدول ۱- اثر تیمارهای شوری (صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار) و کاربرد سیلیکون (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بر صفات رشد (گرم در بوته) و درصد آب نسبی گیاه یونجه در محیط کشت شنی

Table 1- Effects of salinity (0 and 100 mM) and Si application (0, 0.75 and 1.5 mM) on growth parameters (g/plant) and relative water content of *Medicago scutellata* plants grown on sand culture

صفات رشد	0 mM NaCl			100 mM NaCl		
Growth prameters	0 mM Si	0.75 mM Si	1.5 mM Si	0 mM Si	0.75 mM Si	1.5 mM Si
وزن تر بخش هوایی Shoot fresh weight	0.92±0.008c	1.04±0.006b	1.22±0.01a	0.62±0.006e	0.65±0.007e	0.80±0.008d
وزن تر ریشه Root fresh weight	0.42±0.004b	0.44±0.005b	0.45±0.004a	0.22±0.008e	0.27±0.005d	0.34±0.004c
وزن خشک بخش هوایی Shoot dry weight	0.10±0.004b	0.11±0.004ab	0.12±0.006a	0.06±0.004d	0.06±0.004d	0.075±0.002c
وزن خشک ریشه Root dry weight	0.055±0.002b	0.057±0.004ab	0.67±0.004a	0.035±0.002c	0.045±0.002bc	0.047±0.004b
وزن ترکل Total fresh weight	1.35±0.01c	1.48±0.004b	1.67±0.01a	0.85±0.01f	0.92±0.006e	1.14±0.005d
وزن خشک کل Total dry weight	0.16±0.006b	0.17±0.008b	0.19±0.008a	0.09±0.006d	0.10±0.002cd	0.12±0.006c
درصد آب نسبی Relative water content	87.95±0.54a	88.23±0.33a	88.49±0.66a	85.63±0.48b	88.64±0.35a	89.29±0.59a

± نشان‌دهنده خطای استاندارد با ۱۰ تکرار می‌باشد. ردیف‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارد.

Values are mean ± SE from four replicates. Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

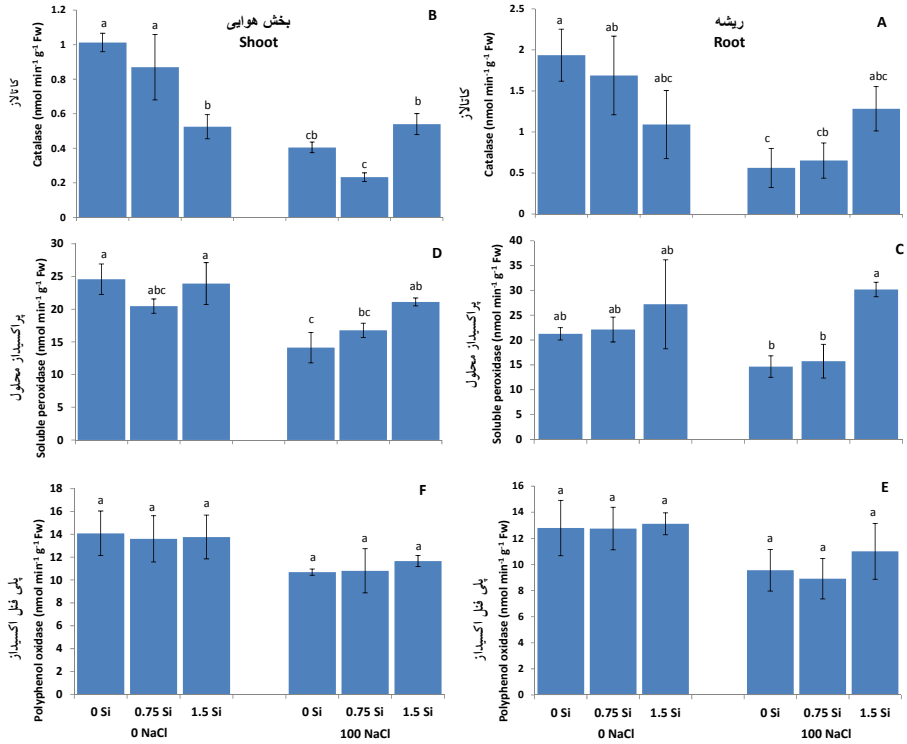
جدول ۲- اثر تیمارهای شوری (صفر و۱۰۰ میلی‌مولار) و کاربرد سیلیکون (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) بر غلظت عناصر (میلی‌گرم در گرم بافت خشک) یونجه یک‌ساله در محیط کشت شنی

Table 1- Effects of salinity (0 and 100 mM) and Si application (0, 0.75 and 1.5 mM) on mineral contents (mg/g dry weight) of *Medicago scutellata* plants grown on sand culture

غلظت عناصر Mineral contents	0 mM NaCl			100 mM NaCl		
	0 mM Si	0.75 mM Si	1.5 mM Si	0 mM Si	0.75 mM Si	1.5 mM Si
سدیم بخش هوایی Na^+ Shoot	2.45±0.37c	2.45±0.58c	1.19±0.25d	10.37±0.66a	7.22±0.83ab	5.12±0.30b
سدیم ریشه Na^+ Root	2.94±0.23d	2.59±0.41ed	1.12±0.21e	13.67±0.73a	11.57±0.49b	7.92±0.68c
پتاسیم بخش هوایی K^+ Shoot	58.09±2.30b	64.39±1.21ab	69.23±4.43a	31.44±3.39c	38.71±3.21c	61.00±3.44ab
پتاسیم ریشه K^+ Root	21.09±1.60b	22.55±0.72b	31.04±1.01a	15.51±1.28d	17.45±1.65d	24.49±1.07bc
کلسیم بخش هوایی Ca^{2+} Shoot	38.92±2.62a	30.37±2.50b	25.72±2.03bc	20.02±2.90c	20.70±3.09c	22.95±2.17bc
کلسیم ریشه Ca^{2+} Root	30.78±0.73a	27.41±0.99a	27.82±1.13a	19.20±1.40b	18.37±1.24b	17.92±1.07b
آهن بخش هوایی Fe Shoot	3.22±0.12b	3.37±0.15b	4.20±0.22a	2.73±0.32b	3.07±0.17b	4.05±0.13a
آهن ریشه Fe Root	5.77±0.54b	5.73±0.26b	9.18±0.43a	5.85±0.47b	5.85±0.10b	8.32±0.40a

± نشان‌دهنده خطای استاندارد با چهار تکرار می‌باشد. ردیف‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارد.

Values are mean ± SE from four replicates. Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

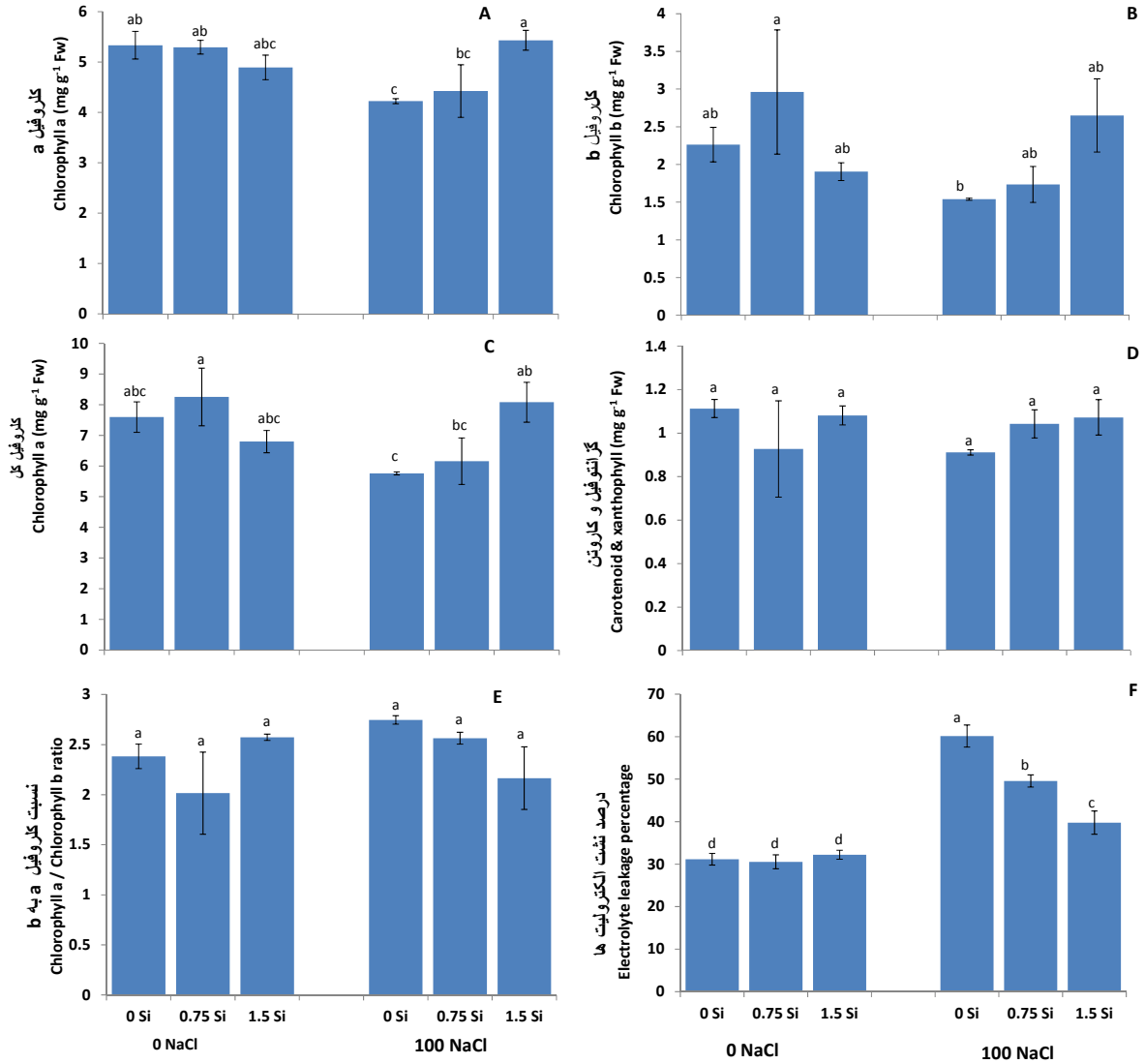


شکل ۱- مقایسه تأثیر تیمارهای شوری و سیلیکون بر میزان فعالیت A- کاتالاز ریشه B- کاتالاز بخش هوایی C- گایاکول پراکسیداز ریشه D- گایاکول پراکسیداز بخش هوایی E- پلی فنل اکسیداز ریشه و F- پلی فنل اکسیداز بخش هوایی. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 1- Comparsion of effects of salinity and Si treatments on activity of A- catalase of root B- catalase of shoot C- Soluble peroxidase of root D- Soluble peroxidase of shoot E- polyphenol oxidase of root and F- polyphenol oxidase of shoot. Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

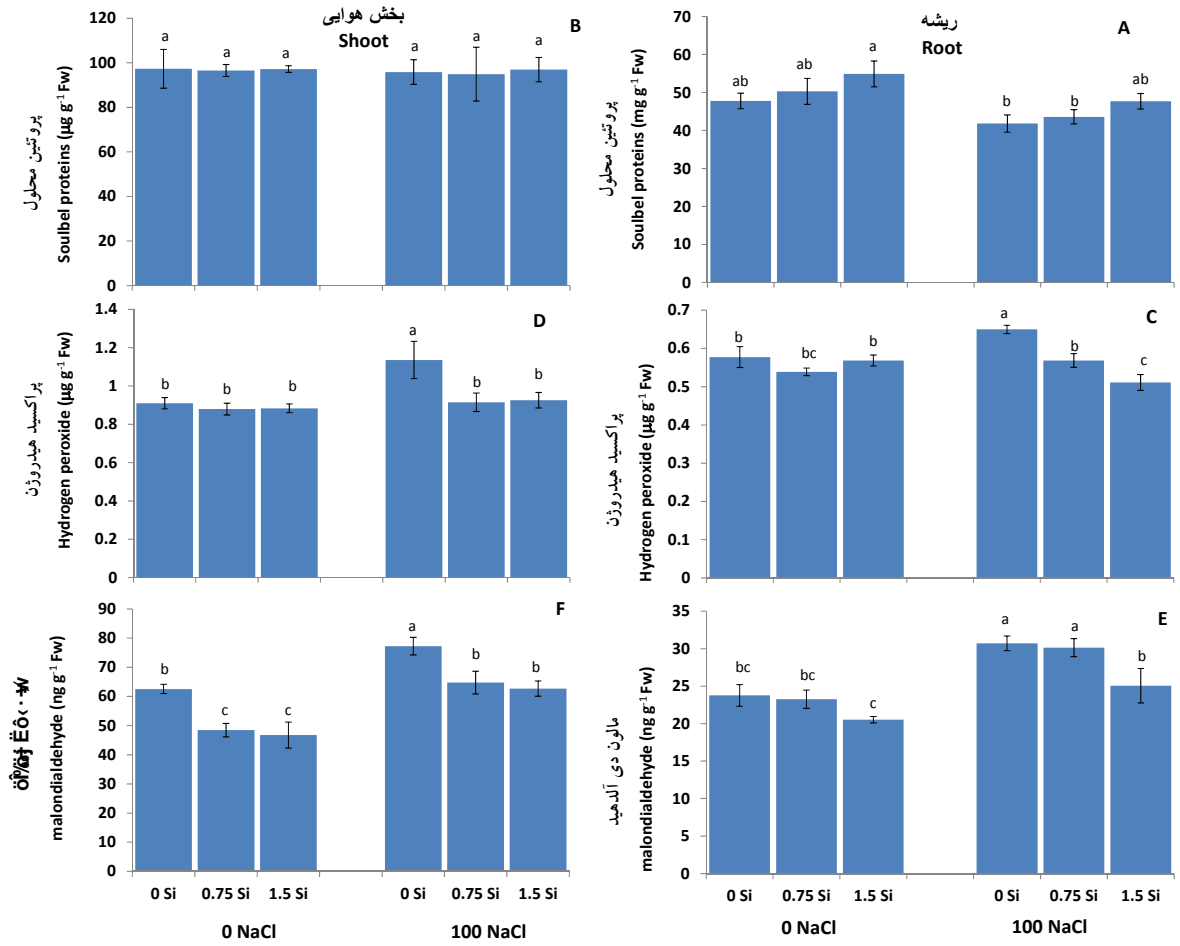
شوری سبب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل a شد، اما بر میزان کلروفیل b و میزان کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها اثر معنی‌دار نداشت. به علاوه میزان نشت الکترولیت‌ها از غشاهای زیستی در گیاهان تحت شوری به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد سیلیکون باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a، b و کاهش تدریجی درصد نشت الکترولیت‌ها به خصوص در سطح ۱/۵ میلی‌مولار گردید. نسبت کلروفیل a به‌b در هیچ از تیمارهای شوری و سیلیکون به‌صورت معنی‌داری تغییر نکرد (شکل ۲).

شوری بر میزان پروتئین‌های محلول تأثیر معنی‌داری نداشت، اما سبب افزایش میزان پراکسیدهیدروژن و پراکسیداسیون لیپید شد. برعکس، کاربرد سیلیکون به‌ویژه در سطح ۱/۵ میلی‌مولار موجب کاهش میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید در ریشه و اندام گیاهان تحت تیمار شوری شد. تغذیه سیلیکون اثر معنی‌داری در میزان پروتئین محلول ریشه و اندام هوایی نداشت (شکل ۳).



شکل ۲– مقایسه تأثیر تیمارهای شوری و سیلیکون (میلی‌مولار) بر میزان A– کلروفیلa B–کلروفیلb C– مجموع کارتنوئید و گزانتوفیل D– کلروفیل کل E– درصد نشت الکترولیت و F– نسبت کلروفیل a به‌b

Figure 2- Comparsion of effects of salinity and Si treatments on A- chlorophyll a B- chlorophyll b C- carotenoids and xanthophyll D- total chlorophyll E- electrolyte leakage percentage and F- chlorophyll a/chlorophyll b ratio. Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)



شکل ۳- مقایسه تأثیر تیمارهای شوری و سیلیکون (میلی‌مولار) بر میزان A- پروتئین ریشه B- پروتئین بخش هوایی C- پراکسید هیدروژن ریشه D- پراکسید هیدروژن بخش هوایی E- مالون دی آلدهید ریشه F- مالون دی آلدهید بخش هوایی. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 3- Comparsion of effects of salinity and Si treatments on A- protein of root B- protein of shoot C- hydrogen peroxide of root D- hydrogen peroxide of shoot E- lipid peroxidation of root and F- lipid peroxidation of shoot. Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05).

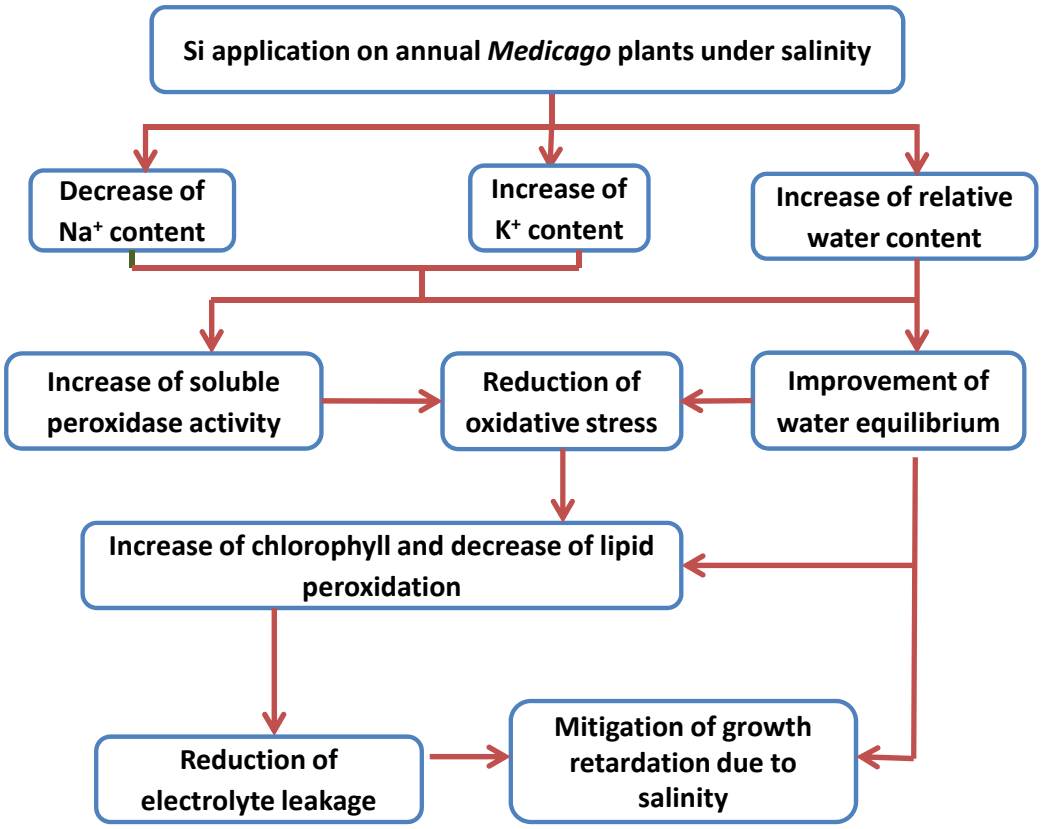
نتایج حاصل از این آزمایشات نشان داد که شوری موجب کاهش رشد در هر دو بخش هوایی و ریشه گیاه یونجه یک‌ساله شد که در کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه، بخش هوایی وزن خشک بخش هوایی، درصد آب نسبی گیاهان منعکس است. کاربرد سیلیسیم در گیاهان تحت تأثیر شوری صفات رشد اندازه‌گیری شده را به ویژه در سطح ۱/۵ میلی‌مولار سیلیسیم بهبود بخشید. این نتایج آشکار می‌سازد که تیمارهای سیلیسیم توانست اثرات زیان‌بار شوری را در گیاه یونجه یک ساله تخفیف دهد. در تحقیقات مشابه نقش مفید سیلیکون در بهبود رشد گیاهان تحت شوری تأیید شده است. اثرات تخفیفی سیلیکون بر تنش شوری در برنج (*Oryza sativa*) (۲۹)، گندم (۵)، جو (*Hordeum vulgare*) (۱۹)، گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) (۶) و کلزا (۱۶) گزارش شده است. در ذیل در ارتباط با دلایل احتمالی این امر بحث شده است.

شوری سبب کاهش درصد آب نسبی گیاهان شد. این امر آشکار می‌سازد که با منفی‌شدن پتانسیل اسمزی محلول غذایی تحت شوری جذب آب توسط گیاهان دشوار شده و گیاه با کمبود آب مواجه شده است (۲۳ و ۲۸). به علاوه، تیمار شوری با افزایش یون سدیم سبب ایجاد سمیت و با کاهش عناصر ضروری پتاسیم و کلسیم و آهن باعث عدم توازن یونی در گیاهان یونجه یک‌ساله شد. احتمالاً سمیت یونی و کمبود آب موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز گردید که پالایش رادیکال‌های آزاد را محدود می‌کند. از طرف دیگر در تنش شوری ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن بیشتر می‌شود که توسط برخی محققین گزارش شده است (۲۲). این امر منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو گردید که در میزان

بالای پراکسیدهیدروژن گیاهان تحت شوری منعکس است. این امر تنش شوری را در گیاه تشدید کرده و در نتیجه کلروفیل را کاهش و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را افزایش داده و در نتیجه ناپایداری غشای پلاسمایی را سبب شده است. این امر در نهایت منجر به کاهش رشد گیاهان تحت تنش شوری شد.

کاربرد سیلیسیم موجب کاهش غلظت یون سدیم و افزایش یون پتاسیم در گیاهان یونجه تحت شوری شد. از طرف دیگر سیلیسیم درصد آب نسبی گیاهان تحت شوری را افزایش داد. کاهش سمیت و بهبود وضعیت آب در گیاهان تحت تنش شوری همراه با کاربرد سیلیکون اثرات ثانویه شوری را کاهش داد که احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز مربوط است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بادام زمینی تحت سمیت کادمیوم (۲۶) و گندم و کلزا تحت شوری (۶، ۱۵ و ۱۶) با تغذیه سیلیکون گزارش شده است. به نظر می‌رسد که فعالیت این آنزیم‌ها نقش مهمی در تخفیف تنش اکسیداتیو ناشی از شوری داشته است که در کاهش میزان پراکسیدهیدروژن منعکس است. کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از کاربرد سیلیکون در گیاهان تحت تنش شوری موجب افزایش میزان کلروفیل و کاهش پراکسیداسیون لیپید و میزان نشت الکترولیت‌ها از غشاهای زیستی گیاهان شد که بیانگر نقش مثبت سیلیکون در پایداری غشای پلاسمایی در شرایط شوری می‌باشد.

کاربرد سیلیسیم در گیاهان فاقد تیمار شوری میزان یون کلسیم را کاهش داد. به نظر می‌رسد که سیلیکون پس از ورود به گیاه به آرامی تغلیظ می‌شود و رسوب سیلیکا در اندودرم و ریزودرم و پلیمریزه شدن سیلیکات از طریق سیلیکای کلوئیدی به سیلیکاژل یا اسید پلی‌سیلیسیک در سراسر آپوپلاست، موجب کاهش جذب برخی عناصر از مسیر خارج سلولی ریشه می‌گردد (۲۹). افزایش تیمار سیلیکون تا ۱/۶۶ میلی‌مولار در محیط کشت هیدروپونیک سبب کاهش جذب و غلظت کلسیم در گیاه برنج شد (۲۰). همچنین که تیمار سیلیکون بالاتر از ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر در گیاه گندم سبب کاهش جذب کلسیم در گیاه شد (۲۱).



شکل ٤- مکانیسم احتمالی تأثیر سیلیکون در تخفیف تنش شوری در گیاه یونجه یک‌ساله

Figure 4- Possible mechanisms of effects of Si on alleviation of salinity stress in *Medicago scutellata*

نتیجه‌گیری

این نتایج آشکار ساخت که تیمار سیلیکون احتمالاً با کاهش یون سدیم، افزایش یون پتاسیم و افزایش مقدار آب نسبی گیاه موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش پراکسید هیدروژن و

در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو گردید. در نتیجه میـزان کلروفیـل در گیاه پروتئین افزایش و پراکسیداسـیون لیپیـد و نشـت الکترولیـت‌هـا کاهش یافت که احتمالاً موجـب پایـداری و حفـظ انسـجام غشـاهای زیستی گردید. این عوامل موجـب بهبـود رشـد گیاهـان تحـت تـنش شوری با کاربرد سیلیسیم گردید. آزمایشات بیشتر در مزرعه برای تأیید نتایج و مقرون به صرفه بـودن اسـتفاده از کودهـای سـیلیکاته ماننـد سیلیکات پتاسیم به قیمت روز حدود ۸۵ دلار برای هر چهار لیتـر کـه برای محلول‌پاشی حدود دو هکتار مزرعه کافی است، توصیه می‌شود.

References

1. Jafari, M. 1995. Salinity and halophytes. Research Institute of Forests and Ranglands. N. 90. (in Persian).
2. Hoseini, A., 1995. Autecoloogical evaluation of *Puccinellia distans* in saline and sodic soils of north Gorgan region. Master's theses. Gorgan University of Agriculture and Natural Resource. (in Persian).
3. Sofi, S., and Janmohammadi, H. 2001. Animal Nutrition. Amiedi Publishing Center. Translated. Tabriz. (in Persian).
4. Dianatnejad, H., and Behfar, A. A. 1988. Deserts, Ecological researches, Plants in saline environments. translated International desert research center. (in Persian).
5. Ahmad R., Syed, H. Z., and Shoaib I. 1992. Role of silicon in salt tolerance of wheat (*Triticom aestivum* L.). Plant Science 85: 43-50.
6. Al-aghabary, 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. Plant Nutrition 27: 2101-2115.
7. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.
8. Ashraf, M. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences 13: 17-42.
9. Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K. 2003. Antioxidant, Oxidative damage and Oxygen deprivation salt-sensitive maize: a Review. Annals of Botany 91: 179-194.
10. Blum, A., and Ebercon, A. 1981. Cell Membrane Stability as a Measure of Drought and Heat Tolerance in Wheat. Crop Science 21: 43-47.
11. Bradford, 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.
12. Chance, B., and Maehly, C. 1955. Assay of catalase and peroxidases. Methods in Enzymology 2: 764-775.
13. Elliot, C. L., and Synder, G. H. 1991. Autoclave-Indused digestion for the colorimetric determination of silicon in Rice Straw. Journal of Agriculture Food Chemistry 39: 1118-1119.
14. Epstein, E. 1999. Silicon Annual review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology 50: 641-664.
15. Farshidi, M., Abdolzadeh, A., and Sadeghipour, H. R. 2012. Silicon nutrition alleviates physiological disorders imposed by salinity in hydroponically grown canola (*Brassica napus* L.) plants. Acta physiologiae plantarum 56: 244-253.
16. Hashemi, A., Abdolzadeh, A., and Sadeghipour, H. R. 2010. Beneficial effects of silicon nutrition in alleviation salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L., plants. Soil Science and Plant Nutrition 56: 244-253.
17. Li, Q., Ma, C., and Shang, Q. 2007. Effects of silicon on photosynthesis and antioxidant enzymes of maize under drought stress. The journal of applied ecology 18: 531-536.
18. 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.
19. Liang, Y. C., Zhang, W. H., Chen, Q., and Ding, R. X. 2005. Effects of silicon on tonoplast H^+-ATPase and H^+-PPase activity, fatty acid composition and fluidity in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). Environmental and Experimental Botany 53: 29-37.
20. Ma, J. F., and Takahashi, E. 2002. Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan, 1st ed. Elsevier, Amsterdam.
21. Mali, M., and Aery, N. C. 2008. Influence of silicon on growth, relative water contents and uptake of silicon, calcium and potassium in wheat grown in nutrient solution. Journal of Plant Nutrition 31: 1867-1876.
22. Marchner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second Edition Academic Press. 890p. New York. Pp: 313-323.
23. Munns R. 2006. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant Cell and Environment 16: 15-24.
24. Sego, R. D. 1982. Chemical and microbiological properties. p. 105–111. In A.L. Page et al. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 2. 2nd ed. American Society of Agronomy, Soil Science.
25. Sergive, I., Alexieva, V., and Karanov, E. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogeneus protective systems and stress markers in plants. Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences 51: 121-124.
26. Shi, G., Cai, Q., Liu, C., and Wu, L. 2010. Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to

cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes. Plant hormones and growth regulators 61: 45-52.
27. Szabolics, I. 1992. Salinization of soil and water its relation to desertification. Desertification Control bulletin 21: 32-37.
28. Tester, M., and Devenport, R. 2003. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. Annals of Botany 91: 1-25.
29. Yeo, A. R., Flowers, S. A., Rao, G., Welfare, K., Senanayake, N., and Flowers, T. J. 1999. Silicon reduces sodium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) in saline conditions and this is accounted for by a reduction in the transpirational bypass flow. Plant, Cell and Environment 22: 559-565.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 14, No. 1, Spring. 2016, p. 133-143

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۴، شماره ۱ ، بهار ۱۳۹۵، ص. ۱۴۳-۱۳۳

Evaluation of Effect of Silicon on NaCl Tolerance in Annual *Medicago scutellata* L.

M. Azizi[1]- A. Abdolzadeh[2*]- P. Mehrabanjoubani[3]- H. R. Sadeghipour[3]

Received: 22-05-2014
Accepted: 03-12-2014

Introduction

Salinity is one of the most important stress resulting depletion of vegetation in large areas of the world including some regions of Iran. Reduction of plant growth due to salinity occurs with a range of mechanisms, including low external water potential, ion toxicity and interfere with the uptake. Silicon (Si) is the second most abundant element in soil and could efficiently mitigate the effects of various biotic and abiotic stresses, such as drought, heavy metal toxicity and salinity on plants. *Medicago scutellata* is an important leguminous forage crop throughout the world that could increase soil nitrogen content via reduction of atmospheric nitrogen. To our knowledge, no study have examined the interaction of salinity and Si nutrition in *Medicago scutellata* or how the beneficial effects of Si in salt-stressed *M. scutellata* plants (if any) are exerted. Accordingly, the aim of the present study was to evaluate the effect of silicon nutrition on salt tolerance of *Medicago scutellata*.

Materials and Methods

Seeds of alfalfa (*Medicago scutellata* L.) were sterilized with a 2.5% sodium hypochlorite solution and were incubated in a moistened paper towel. Then, they germinated in the dark at 25 ±5 ° C for 48 h. Healthy seedlings of uniform sizes were selected for hydroponic culture (Hoagland solution) in a 10×15×15 cm plastic pots. A factorial experiment carried out based on a completely randomized design with two factors. The first factor was salinity, including 0 and 100 mM NaCl and the second was silicon nutrition, including 0, 0.75 and 1.5 m.M sodium silicate. The pH of the nutrient solution was adjusted daily at 6.4 ± 0.2 and nutrient solution was refreshed weekly. During the experiment, maximum and minimum air temperatures were 30ºC and 21ºC respectively, and the mean relative humidity was 67%. Four weeks after exerting the treatments, plants were harvested and used for the assessment of growth parameters and chemical analyses.

Results and Discussion

Salinity led to a significant reduction in both the fresh and dry weights of the plants. On the contrary, the dry weight of the plants improved significantly under saline conditions when Si was added to the medium, especially 1.5 mM Si. Salt treatment increased the concentration Na^+ and decreased the concentration K^+ significantly in both shoots and roots; however, Na^+ concentration, reduced and K^+ concentration increased due to Si application in salt treated plants. Similarly, Fe content decreased in shoot of plants due to salinity, whereas Si nutrition increased Fe content in plants suffered from salinity. The activity of catalase declined and the amount of hydrogen peroxide increased in plants under salinity. Conversely, Si treatments, especially, at 1.5 mM could recover the activity of this enzyme and reduced hydrogen peroxide content. Salinity imposed significant reduction in the contents of chlorophylls, total carotenoids and xanthophylls and soluble proteins. The amount of hydrogen peroxide, lipid peroxidation as well as electrolyte leakage via plant leaves increased due to salt stress. In contrast, the contents of chlorophylls, carotenoids and xanthophylls, soluble proteins increased following Si application. Also, the amount of hydrogen peroxide and rate of lipid peroxidation and electrolyte leakage decreased in salt-treated plants by Si application. Silicon nutrition can recover the chlorophyll content and the amount of soluble proteins on *Medicago scutellata* plants under salinity, which suggests that it plays a role in the suppression of oxidative stress. Si application also improved the chlorophyll content of tomato and barley under salt stress (Al-aghabary *et al.,* 2004). The data reported in the present study show new aspect of the beneficial effect of Si on plants grown under saline condition. The application of Si prevented Na^+ accumulation and enhanced K^+ content in *Medicago scutellata* plants. Reduced Na^+ accumulation improves the plant ROS

1- Former master student, Golestan University
2- Prof. Dept. of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan
3- Asistant Prof., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
4- Associate Prof. Golestan University
(*- Corresponding Author Email: ah_ab99@yahoo.com)

scavenging capacity through increased antioxidant enzyme activity (Al-aghabary *et al.*, 2004 Hashemi *et al.*, 2010), accompanied by reducing lipid peroxidation. Consequently, photosynthetic pigments increased and membranes functionality improved by Si in plants under salinity (Liang *et al.*, 2005).

Conclusions

The results indicated that 1.5 mM silicon application alleviated harmful effects salinity, probably through declined Na^+ enhanced K^+ content that increased antioxidant enzyme activity and reduced reducing oxidative stress. Consequently, photosynthetic pigments increased and membranes functionality improved with plants under salinity. In this regards, Si application led to an increased salt tolerance of *Medicago scutellata*. Further, field experiments are necessary for confirmation of the results and expedience of economic cost.

Keywords: Annual medicine plants, Silicon nutrition, Salinity alleviation