بهبود اثرات تنش شوری با سیلیکون در ارقام چیتی و سبز لوبیای (Phaseolus vulgaris) معمولی هادي نصر تي[']، پر تو روشندل^۳*

تاريخ دريافت:١٣٩٥/٥/٢٢ تاريخ پذيرش: ١٣٩٥/١٢/١١

جكىدە

پژوهش حاضر اثر تغذیه سی*لیکونی (۰/۵ و ۱ میلی مولا*ر) در دو رقم لوبیا (Phaseolus vulgaris) (لوبیا چیتی و لوبیا سبز) تحت شوری ناشی از کلریدسدیم (۵۰ میلی مولار) بررسی شد. برای هر رقسم، آزمایشــی مسـتقل در قالب طرح کاملاً تصادفی روی دانه رستهای ۱۲ روزه انجام گرفت و تا چهار هفته اعمال تیمارهــا ادامــه یافــت. صفات مورد ارزیابی عبارت بود از وزن خشک ساقه و ریشـه، میـزان کلروفیـل کـل، نشـت الکترولیتــی غشـاء، محتوای نسببی آب، پرولین برگیا، غلظت کاتیونهای *Na و *K در ریشه و ساقه. تحت تـنش شـوری کـاهش *K⁺ Na⁺* يرولين و نشت الكتروليتها افزايش يافت. همراه با تغذيه سيليكوني درصد ارتقاء بيوماس در لوبيا چيتي بيش از لوبیا سبز بود. دادههای این پژوهش پیشنهاد میکند سیلیکون با جلوگیری از ورود سدیم اضافی و کاهش نشت الکترولیتی همراه با بالا بردن محتوای نسبی آب تحمل به تنش شوری را در لوبیا چیتی افزایش میدهد. *K⁺ /Na⁺ Si*

مقدمه

سیلیکون دومین عنصر از نظر فراوانی در خاک است. علیرغم این میزان فراوانی، سیلیکون هرگز به شکل آزاد در خـاک یافـت نشـده و همواره در ترکیب با دیگر عناصر به فرم انواع اکسید یا سیلیکات وجود دارد. گیاهان سیلیکون را بـه فـرم اسـید سیلیسـیک مولکـولی، Si(OH)4، جذب می کنند و این عنصر نهایتاً به طور غیر قابل بر گشت در سراسر گیاه به حالت سیلیکای بی شکل رسوب میiمایـد. بـه این ترتیب علیرغم فراوانی، بیشتر منابع سیلیکون موجود در خاک به شکل قابل دسترس برای گیاه نمی باشد. اگرچــه نقــش ســیلیکون به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد و نمو اکثر گیاهان به اثبات نرسیده است، ولی مشخص شده اسـت کـه جـذب آن توسـط گیـاه (Wang *et al*., (Rodrigues *et al*., 2003) Yin *et al*., 2014) 2004; Kaya *et al*., 2009)بصورت نانوذرات سیلیکا نیز توسط اشکاوند و همکاران (۲۰۱۵) در گونه زالزالـک و زرافشـار و همکـاران (۲۰۱۵) در گونـه گلابـی نیـز

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه شهر کرد

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهر کرد

^{* (}نويسنده مسئول: roshandelparto@gmail.com)

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای هادی نصرتی به راهنمایی دکتر پرتو روشندل است که در دانشگاه شـهرکرد انجـام گ فت.

(*Phaseolus vulgaris* L.) توجهي از رشد و محصول دهي آن مي كاهد. خاكي كه در آن لوبيا كشت مي شود مي بايست حاوي كمتـر از ۰/۵٪ نمـك كلريـد سـديم باشد. محققان پیشنهاد کردهاند که می توان اثرات نامطلوب تنش شوری را با روشهایی مانند بهنژادی رقــهـای زراعــی جدیــد، تولیــد گیاهان زراعی تراریخت و غیره کم نمود، ولی هزینه بالای این روشها، نیاز برای یافتن رامهای ساده با هزینه پایین را ایجـاب مـی/نـد. یکی از روشهای کم هزینه، به کـارگیری کودهـای سـیلیکاته بـه ویـژه در مـواردی اسـت کـه آب اسـتفاده شـده در آبیـاری حـاوی (Liang *et al*., (Ahmad *et al*., 1992) (Parveen and Ashraf, 2010) (Zhu *et al*., 2004) (Yeo *et al*., 1999) (Shi *et al*., 2014) 2003) آشکار شده است. با این همه، مکانیسم (های) اثر سیلیکون هنوز بهخوبی معلوم نیست. در این باره محققان پیشنهاداتی ارائـه کـردهانـد که می توان به این موارد اشاره کرد: ۱) ممکن است سیلیکون از طریق رسوب Si به شکل سیلیکای بی شکل و فیتولینهـای أيـال روی دیواره سلولی، از جابجایی سدیم (در اثر تعرق) در اندامهای هوایی بکاهـد (Wang *et al.*, 2004)، ۲) در ریشـههـا سـیلیکون بـا سـدیم تشکیل کمپلکس داده و از انتقال سدیم به اندامهای هوایی جلوگیری می *ک*ند (Ahmad *et al.*, 1992)، ۳) سـیلیکون باعـث حفاظـت از H (Liang *et al.*, 2003) ⁺ -ATPase كدهبندي سديم در واكوئلها شود (Liang *et al.*, 2003). توضيح ديگري نيز توسط Yeo و همكاران (١٩٩٩) بيان شـده اسـت بـر ايـن مبنا که سیلیکون سهم آب جذب شده از ریشه از طریق مسیر آپوپلاستی را محدود میکند و به ایـن طریـق ورود سـدیم بـدون تـاثیر چشمگیر بر جریان کلی تعرق و رشد گیاه کاهش می،یابد. همچنین تاثیر سودمند سیلیکون در افزایش تحمـل بـه شـوری بـه فعالیـت آنزیمهای آنتی اکسیدان نسبت داده شده است (Zhu *et al.*, 2004). در آزمایشاتی که بر روی بذر گوجـه فرنگـی تحـت شـوری (۲۵ و ۵۰ میلی مولار) توام با سیلیکون (۱ و ۲ میلی مولار) انجام گرفت معلوم شد سیلیکون ۱ میلی مولار باعث تخفیف اثرات منفـی کلریـد .(Haghighi *et al.*, 2012)

در تحقیق حاضر به تاثیر سیلیکون در افزایش مقاومت به شوری دو رقــم لوبیــا چیتــی و لوبیــا ســبز در مرحلــه گیاهچــهای پرداخته شده و مكانيسم احتمالي آن مورد بحث قرار گرفته است.

مواد و روش ها

شرایط کشت و تیمار گیاهان

در پژوهش حاضر که در گلخانه مرکزی دانشگاه شهرکرد انجام گرفت، برای بررسی تأثیر سیلیکون در افزایش تحمل گیاه لوبیـا به شوری از بذرهای لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) با ارقام لوبیا سـبز و لوبیــا چیتــی کــه کشــت آنهـا رایــج اسـت، استفاده شد. برای هر رقم آزمایشی مستقل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار روی دانهرستهای ۱۲ روزه انجام گرفت و تا چهار هفته اعمال تیمارها ادامه یافت. در هر آزمایش چهار تیمار شامل: ۱) شاهد (بدون تیمار کلرید سـدیم و سـیلیکون)، ۲) تیمار کلرید سدیم (۵۰ میلی مولار)، ۳) تیمار کلرید سدیم با غلظت ۵۰ میلـی مـولار + ۵/ میلـی،مـولار سـیلیکون و ۴) تیمـار کلریدسدیم با غلظت ۵۰ میلی،مولار کلریدسدیم + ۱ میلی،مولار سیلیکون جهت یافتن غلظت پایـه سـیلیکون اعمـال گردیـد. از آنجایی که در تحقیقات قبلی بی اثر بودن سیلیکون (به تنهایی) بر رشد گیاهـان لوبیـا گـزارش شـده بـود (Zuccarini, 2008)، تیمار مذکور در این آزمایشات لحاظ نشد. محیط گلخانه دارای شرایط ۱۴ساعت نور/ ۳۳ درجه سانتیگراد و ۱۰ ساعت تـاریکی/ ۱۸ درجه سانتیگراد بود. پس از اتمام دوره آزمایش، اندازهگیری وزن خشک و تر ریشه و اندامهای هوایی (بهطـور جداگانــه) بـا استفاده از ترازوی دیجیتال (±+۰/۰۰۰) انجام شد. برای تعیین وزن خشک، اندامهای گیاهی مورد بررسی بهمدت ۷۲ ساعت در آون ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

a+b

جذب نور عصاره استونی برگهای تازه در طول موجهای ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر قرائت و میزان کلروفیـل کـل (a+b) بـا اسـتفاده از (Lichtenthaler and Buschmann, 2001)

Chl. a $(mg.ml^{-1}) = 12.25$ A $_{663.2}$ -2.79 A $_{646.8}$ Chl. b (mg.ml⁻¹) = 21.51 A _{646.8} -5.1 A _{663.2} Chl. Total $(mg.ml^{-1}) = Chl. a + Chl. b$

اندازه گیری نشت الکترولیتی غشاء

۰/۲ گرم برگ تازه با دقت شسته و خشک و در ظروف شیشهای در پوشدار محتوی ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه قـرار داده شـد. سیس به مدت سه ساعت در دمای سی درجه سانتیگراد در حمام آب گرم قرار داده و نشت الکترولیتی آنها با استفاده از هدایت سنج الکتریکی اندازه گیری شد (Cı). مجدداً نمونهها به مدت دو دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده و برای بار دوم هدايت الكتريكي آنها پس از سرد شدن محلول اندازه گيري شد (C2). درصد نشت (EL) مطـابق فرمـول زيـر محاسـبه گرديـد (Tuna *et al*., 2008)

% EL=C₁/C₂×100
«دايت الكتريکى محلول بعد از جوش=
$$
C_2
$$
«مدايت الکتريکى محلول قبل از جوش، = C_1

سنجش ميزان پرولين

برای اندازه گیری پرولین طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳)، ۲۰۰ میلی گرم از بافت تازه برگ در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳٪ اسيد سولفوساليسيليک ساييده و مخلوط حاصل به مدت ١٠ دقيقه (g ×٨٥٠٠) سـانتريفيوژ (دسـتگاه سـانتريفوژ يونيورسـال مدل PIT320) شد. سپس به ۲ میلی لیتر از محلول صاف شده، ۲ میلی لیتر از هـر یـک از مـواد معـرف نـینهیـدرین و اسـید استیک گلایسیال اضافه گردید و مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قـرار داده شـد. سپس این محلول بر روی یخ سرد شد و به آن ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه و با دستگاه ورتکس بهخوبی مخلـوط شـد. لولـههـای حاوی این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه ثابت نگه داشته شد. پس از تشکیل دو فاز در لولههای آزمایش، از لایه فوقانی کـه حـاوی UV-2500, ShimadzuCorp., Kyoto, Japan طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد. میزان پرولین با کمک منحنی استاندارد بر اساس میکرومولار بر گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ گیاهچههای ۴۰ روزه، با روش (Tuna et al., 2008) اندازگیری شد. از برگ هر گروه از گیاهچهها، شش دیسک برگی برداشت شد. وزن تر هر نمونه اندازه گیری شد (FW). دیسکـها در آب دیونیزه برای هفت سـاعت شـناور شـدند. بعد از گذشت این مدت زمان دیسکهای تورژسانس یافته دوباره توزین شدند (TW). سپس دیسکهای مـذکور در دمـای ۷۰ درجه سانتی گراد آون به مدت ۷۲ ساعت خشک و توزین شدند (DW. با استفاده از رابطه زیر درصد محتوای نسبی آب برگهـا (RWC)محاسبه گردید:

$RWC = [(FW-DW)/(TW-DW)] \times 100$ %

تعيين محتواي يوني

برای سنجش میزان کاتیونهای Na^+ و K^+ ، ریشه و بخش هوایی خشک شده گیاهان مورد آزمایش پس از آسیاب شدن به مـدت ۵ ساعت درون کوره و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. به خاکسـتر حاصـل از هـر نمونـه، ۵ میلـی|یتـر اسـید كلريدريك ۶ نرمال اضافه و حرارت داده شد. پس از صاف كردن نمونهها با كاغذ صافي، حجم محلول صاف شده بـا افـزودن آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. غلظت یونهای سدیم ، پتاسیم با روش فلیم فتومتری (.Corning U.K) اندازه گیـری (Roshandel, 2005

تجزيه وتحليل آماري

تجزیه واریانس با استفاده از آزمون یک طرفه در برنامه آماری SPSS مورد بررسی قرار گرفت و مقایسـه میـانگینهـا در سـطح p<0.05 و با استفاده از آزمون چنددامنهای دانکن صورت گرفت. نمودارهای مربوطه با استفاده از برنامه Excel رسم گردید.

نتايج و بحث

تجزیه واریانس برای دادههای بهدست آمده از لوبیا چیتی (جدول ۱) و لوبیا سبز (جدول ۲) نشان داد که تاثیر تیمـار شـوری و نیز شوری همراه با تغذیه سیلیکونی بر روی صفات مورد بررسی در هر یک از دو واریتـه، دارای اخـتلاف معنـی۱دار در سـطح ۵ در صد است.

مقایسه میانگینها نشان داد که تیمار گیاه با کلرید سدیم بهنحو معنیدار از وزن تر بخشهای هوایی و زیرزمینــی در هـر دو رقم كاست (p<0.05) (شكل ١؛ الف و ب). درصد اين كاهش براي بخش هوايي لوبيا چيتي ۴۱٪ و بـراي لوبيـا سـبز ۳۹٪ بـود. کاهش وزن تر ریشهها تحت تنش شوری در لوبیا چیتی ۲۹٪ و در لوبیا سبز ۱۶٪ بهدست آمد. تغذیه سیلیکونی (در مـوثرترین حالت یعنی سطح ۱ میلی مولار) فقط باعث افزایش معنی دار در وزن تـر بخشـهای هـوایی لوبیـا چیتـی (۲۶٪+) و لوبیـا سـبز (۲۷/۵٪+) نسبت به شاهد شوری شد. ولی تفاوت معنیداری در دو سطح ۰/۵ و ۱ میلی مولار سیلیکون بهدست نیامـد. تـاثیر سیلیکون بر افزایش وزن تر ریشه در هر دو رقم نسبت به شاهد شوری اختلاف معنیداری نشان نداد. بررسـی نتـایج نشـان داد تیمار شوری باعث کاهش معنیدار در وزن خشک بخشهای هوایی و زیرزمینی هر دو رقم لوبیـا چیتـی و لوبیـا سـبز مـیشـود (شکل ۱، ج و د).

تحت تنش شوری، کاهش وزن خشک در لوبیا چیتی ۴۸٪- و در لوبیا سبز ۴۳٪- نسبت به شاهد بود. تغذیه سـیلیکونی در موثرترین سطح (۱ میلی مولار) باعث افزایش ۴۰ درصدی وزن خشک در لوبیا چیتی و در مقایسه با شاهد شوری شـد. میـزان این صفت در چنین شرایطی برای لوبیا سبز ۳۲٪ بود. در مورد وزن خشک ریشهها، تنش شوری بـه تنهـایی باعـث کـاهش ۵۰ درصدی این پارامتر در لوبیا چیتی شد. میزان آن برای لوبیا سبز ۵۴٪- بود. تغذیه سیلیکونی (بهویژه در ۱ میلی مـولار) باعـث افزایش وزن خشک ریشههای لوبیا چیتی (۳۸٪+) و لوبیا سبز (۲۳٪+) گردید. ولی اختلاف معنیداری بسین دو سـطح ۰/۵ و ۱ مبلے مولار سیلیکون مشاهده نشد.

تاکنون تاثیر مفید سیلیکون در تخفیف اثرات سوء تنشهای مختلف زیستی و غیرزیسـتی در گیاهـان گونـاگون نشـان داده (Ahmad *et al*., 1992; Yeo *et al*., 1999; Neumann and De Figueiredo, 2002; Rodrigues *et al*., 2003; Gong *et al*., 2006; Zuccarini, 2008; Parveen and Ashraf, 2010; Pavlovic *et al.*, 2013; Yin *et al*., 2014; Ahmed *et* *al.*, 2014; Shi *et al*., 2014; Ashkavand *et al.*, 2015; Zarafshar *et al.*, 2015) گویای سودمندی سیلیکون بر رشد ارقام لوبیای معمولی تحت تنش شوری و تایید کننده تحقیقات قبلی بود. این نتـایج نشـان داد

جدول۱: جدول تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد بررسی در گیاه لوبیا چیتی ۴۰ روزه تحت تیمار شوری و

* معنیداری در سطح ۵ درصد

سيليكون

* معنىدارى در سطح ۵ درصد

اگرچه در تنش شوری ناشی از کلریدسدیم از میزان بیوماس و وزن تر (محتوای آب کل) در ارقـام لوبیـا چیتـی و سـبز کاسـته میشود ولی تغذیه سیلیکونی اثرات منفی کلریدسدیم را بهنحوی معنیدار تخفیف میدهد. نتایج نشانگر آن بود که تحت تنش شوری میزان کلروفیل کل در هر دو رقم در مقایسه با شاهد کـاهش معنـیداری یافـت (کاهش به میزان ۲۱٪ در لوبیا چیتی و ۲۶٪ در لوبیا سبز). با این وجود، تغذیه با سـیلیکون (در هـر دو سـطح) باعـث افـزایش معنیدار غلظت کلروفیل در هر دو رقم تحت تنش شوری شد (شکل ۲؛ الف). این افزایش – در موثرترین سطح سیلیکون یعنــی ۱ میلی مولار – در رقم لوبیا چیتی ۱۸٪ و در لوبیا سبز ۱۶٪ بود. تاثیر سیلیکون در دو غلظت بکار رفته، تفاوت آمـاری نداشـت. گزارش شده است سیلیکون با تاثیر مثبت بر فراساختار برگ0ا، محتوای کلروفیل کل و فعالیت آنزیم رابیسکو سرعت فتوسـنتز (Liang *et al.*, 2003; Shi *et al*., 2014) حاضر نیز نشان داد در ارقام لوبیا نیز سیلیکون با حفظ نسبی محتوای کلروفیل کل میتواند در انجـام بهتـر فتوسـنتز، گیـاه را یاری دهد. Zuccarini (۲۰۰۸) معتقد است سیلیکون از تاثیر منفی سدیم بر تبادلات گازهـای فتوسـنتزی مـیcکاهـد و از ایـن طریق بر کارایی بهتر فتوسنتز می|فزاید. اشکاوند و همکاران (۱۳۹۵) نیز گزارش نمودنـد کـه اسـتفاده از نـانوذرات سـیلیکایی، نقش مثبتی در نگهداشت عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچههای زالزالک تحت تنش خشکی دارد.

تنش شوری (۵۰ میلی مولار) تاثیر منفی خود را بر پایداری و انسجام غشاءهای سیتوپلاسمی در هر دو رقـم لوبیـای مـورد مطالعه نشان داد (p<0.05) (شكل ٢؛ ب). اين تاثير منفي (افزايش نشت الكتروليتها) در لوبيا چيتي شـديدتر بـود (افـزايش ٧٩ درصدی نسبت به شاهد). در لوبیا سبز و تحت تنش شوری تنها، نشت الکترولیتهـا ۷۲٪ نسـبت بـه شـاهد بیشـتر بـود. تغذیـه سیلیکونی باعث حفاظت و تقویت انسجام غشاءهای سیتوپلاسمی در برابر کلرید سدیم شد (p<0.05). بـرخلاف لوبیــا ســبز، در لوبیا چیتی تاثیر سیلیکون در دو سطح ۰/۵ و ۱ میلی مولار، تفاوت معنی دار داشت. در مقایسه بـا تیمـار شـوری تنهـا، تغذیـه سیلیکونی در سطح ۱ میلی مولار بهترین تاثیر را در کاهش نشت الکترولیتی نشان داد (میزان این پـارامتر بـرای لوبیـا چیتـی ۳۴/- و برای لوبیا سبز ۱۶/- بود). در لوبیا سبز بین دو سطح سـیلیکون اخـتلاف معنـی داری بـرای ایـن صـفت دیـده نشـد. دادههای تحقیق حاضر نشان داد اگرچه در تنش شوری پایداری و انسجام غشاءهای سیتوپلاسمی در لوبیا چیتی بـیش از لوبیـا سبز دچار مخاطره می۶ردد، با این وجود، برای کاهش نشت الکترولیتها، تغذیه سیلیکونی در لوبیا چیتـی تــاثیر قــویتری دارد. (Tuna *et al*., 2008) (Liang *et al.*, 2003) شده است. اگرچه مکانیسم خاصی برای این پدیده عنوان نشده است ولی امکان دارد این رخداد بهنحوی با رسوب Si بـه شـکل سیلیکای بیشکل و فیتولینهای آپال در غشاءها در ارتباط باشد.

نتايج نشان داد تنش شوري باعث افزايش معنىدار غلظت پرولين در برگ هر دو رقم لوبيـا چيتـي (٢٢٪+) و سـبز (١٩٪+) میشود (p<0.05). همانگونه که در شکل (۲؛ ج) قابل مشاهده است استفاده از تغذیــه سـیلیکونی (بــهویـژه در سـطح ۱ میلــی مولار) میزان پرولین را در برگ گیاهان هر دو رقم مورد مطالعه نسبت به تیمار شوری تنها تا بیش از ۷٪ کـاهش داد ولـی ایـن اختلاف از نظر آماری تفاوت معنیداری نداشت. در گزارشهای مختلف بیان شده اسـت کــه تحـت تــنشهــایی ماننــد شــوری و خشکی، غلظت پرولین در بافتهای گیاهی افزایش می یابد (خواجـه و همکـاران، ۱۳۹۴). محققـان دلیـل ایـن امـر را تحریـک بیوسنتز پرولین یا کاهش اکسیداسیون آن در شرایط تنش میدانند (Sharma and Kuhad, 2006).گفتـه مـی.شـود پـرولین در گیاهان تحت تنش از تجزیه شدن ماکرومولکولهای حیاتی مانند آنزیمهای سیتوسلی جلوگیری کـرده و در عـین حـال باعـث حفظ انسجام و استحکام دیواره سلولی و پاکروبی رادیکالهای مخرب تولید شده در اثر تنش میشود (اکبری مقدم، ۱۳۹۱). در نگاهی اجمالی به تحقیقات انجام شده در این خصوص چنین بر میآید که ارتباط تیمار سـیلیکونی و تغییـر غلظـت پـرولین در گیاهان تحت تنش همواره از روند مشابهی برخوردار نیست. بهعنوان مثال، در آزمایشی که خواجه و همکاران (۱۳۹۴) بـر روی گیاهان گندم تحت تنش خشکی انجام دادند معلوم شد محلولپاشی سیلیکون (۱/۵ میلی مولار) باعث افزایش میزان پرولین در گیاهان تحت تنش شدید می شود. ولی در نتایجی متضاد، طالع احمد و حداد (۱۳۸۹) و حداد و مشیری (۱۳۸۹) گزارش کردند که در گیاهان گندم و جو که تحت تنش خشکی قرار داشتند سیلیکون باعث کاهش غلظت پرولین میشود. در آزمایش حاضـر، اگرچه در مقایسه با تیمار شوری تنها شوری غلظت پرولین در گیاهان تحت شوری همراه با تغذیه سیلیکونی کاهش یافت ولـی این کاهش از نظر آماری معنیدار نبود. به این ترتیب نمی¤وان با قاطعیت عنوان کرد که در مکانیسم تاثیر سیلیکون در افزایش مقاومت به شوری دو رقم لوبیای مورد مطالعه، پرولین نقشی اساسی برعهده دارد.

محتوای نسبی آب برگ در هر دو رقم در تنش شوری کاهش معنیدار نشان داد (p<0.05). این کاهش بـرای لوبیــا چیتــی ۵۰٪ و برای لوبیا سبز ۴۷٪ بود (شکل۲؛ د). با استفاده از سیلیکون محتوای نسبی آب برگ در هر دو رقم به صـورت معنـیدار بهبود یافت. در بهترین حالت (سیلیکون ۱ میلی مولار) و نسبت به تیمار شوری تنها، میزان این صفت برای لوبیا چیتـی ۵۳٪ و برای لوبیا سبز ۴۲٪ افزایش نشان داد. اثر سیلیکون در بین دو سطح به کار رفته با یکدیگر تفاوت معنیدار داشت. کاهش اولیـه رشد گیاه در شوری، ناشی از اثرات اسمزی کلرید سدیم است، از اینـرو در نظرگیـری وضـعیت آب گیـاه در شـرایط شـوری از اهميت خاصى برخوردار است 2002 .Munns et al)). توانايي گياه در نگهداشت آب كل و به دنبال آن رقيق شدن غلظت $^+$ Na اضافی در سلولها و بافتها به عنوان یک موقعیت در ارتقـاء تحمـل بـه شـوری بـهشـمار مـیرود. نشـان داده شـده اسـت کـه كمپلكسهاى با وزن مولكولى بالاى سيليكون مىتوانند از طريق فرآيند اندوسيتوز به داخل واكوئلهـا منتقـل و باعـث تقويـت سازگاری اسمزی شده و متعاقباً ظرفیت نگهداری و حفظ آب بافت افزایش یابد (Neumann and De Figueiredo, 2002). گفته می شود سیلیکون به شکل اسید مونوسیلیسیک غیر باردار توسط ریشهها فعالانه جذب می شود و سـیس بـهطـور غیـر فعـال از طريق جريان تعرق در گياه انتقال مىيابد. پس از آن بهطور غير قابل برگشت بهشكل SiO2-nH2O در ديواره و لـومن سـلولهاى گیاه , سوب می کند (Richmond and Sussman, 2003). به این ترتیب، یکی دیگر از اثرات تخفیف دهنده سیلیکون در شـوری

 \sim میت مربوط به ماهیت هیدروفیل این ماده باشد. رسوب SiO2-nH2O میتوانـد بـه نگهداشـت آب کمـک نمایـد و متعاقبـاً غلظت نمكها در سلول رقيق شده و بافتها در برابر خشكي فيزيولوژيك محافظت شوند.

همچنانکه در شکل ۳ مشهود است در حضور کلریدسدیم و در غیاب سیلیکون، غلظت یون سدیم بهطور قابل توجهی در هر دو رقم لوبيا چيتي و لوبيا سبز افزايش يافت (p<0.05). تجمع *Na در ريشههاي اين دو رقــم بـيش از بخـش هــوايي آنهـا بـود (شکل ۳؛ الف و ب). این مقادیر در ریشه و بخشهای هوایی لوبیا چیتی به ترتیب ۸/۳ و ۴/۶ برابر و در ریشه و انـدامهای هـوایی لوبیا سبز به ترتیب ۶ و ۲/۷ برابر نسبت به حالت بدون تنش بهدست آمد. اضافه کردن سیلیکون به محلول غذایی هوگلنـد بـه-نحوي معنىدار باعث كاهش تجمع *Na در هر دو رقم لوبيا شد، اگرچه در مقايسه با تيمار شوري تنها هنوز غلظت آن بالا بـود. بهطور کلی، تاثیر بازدارندگی سیلیکون بر ورود *Na اضافی در تنش شوری در سطح ۱ میلیمولار مشهودتر از ۰/۵ میلـیمـولار بود (نزدیک به دو برابر) و این تاثیر در ریشهها (کاهش دو برابری برای ورود سدیم) بیش از بخشهای هوایی بـهدسـت آمـد. در بهترین وضعیت (سیلیکون ۱ میلی مولار)، میزان یون سدیم در ریشه لوبیا چیتی ۲/۴ و در ریشه لوبیا سـبز ۱/۳ برابـر کمتـر از تیمار شوری تنها بود. علاوه بر این در تغذیه سیلیکون ۱ میلی مولار، از میزان یون سدیم در بخشهای هـوایی لوبیـا چیتـی تـا ۱/۶ برابر کاسته شد و در اندامهای هوایی لوبیا سبز میزان این کاهش ۶۸٪ بود.

در گلیکوفیتها و در شرایط شوری، تجمع بیشتر \rm{Na}^{+} در ریشهها نسبت اندامهای هوایی یک موقعیت مهـم بـرای دور نگهداشــتن این کاتیون از اندامهای فتوسنتز کننده و در نتیجه تحمل شوری محسوب میشود (Munns *et al.*, 2002). بهنظر مــیرســد در ایــن دو رقم لوبیا نیز چنین مکانیسمی وجود داشته است. در گیاهان برنج و جو گزارش شده است که در تـنش شـوری، سـودمندی سـیلیکون ناشي از تاثير آن در كاهش محتواي Na⁺ در انــدامهــاي هــوايي اســت (Yeo *et al.*, 1999) (۲۰۰۸) نيــز عنــوان نمــود كــه سیلیکون باعث کاهش محتوای *Naبویژه در برگ&ا میشود. پیشنهاد شده است که رسـوب سـیلیکون در دیـواره سـلول&ـا از انتقـال نمكها به اندامهاى هوايي مي كاهد (Shi *et al.*, 2014). به اين ترتيب دادههاى حاضر اين فرضيه را حمايت مي كند كه تخفيـف اثـرات مضر کلرید سدیم توسط سیلیکون میتواند مربوط به کاهش تجمع این نمک در اندامهای هوایی باشد.

در پژوهش حاضر تغذیه سیلیکونی از تجمع *Na در بافتهای ریشهای ارقام لوبیا کاست؛ این یافتـه موافـق بـا ایـن فرضـیه است که سیلیکون از طریق انسداد نسبی انتقال آپوپلاستی Na^{+} که تا حد زیادی مسئول ورود این یون به ریشههاست، از ورود آن به گیاه جلوگیری مینماید. محققان پیشنهاد کردهاند که رسوب سیلیکون در دیــواره سـلولهای اگــزودرمیس و انــدودرمیس (Yeo *et al*., 1999; Gong *et al*., (2006 ایده ی دیگری نیز ابراز شده مبنی بر این که سیلیکون انتقال *Na به اندامهای هوایی را با تشکیل کمپلکسهای بزرگـی (Ahmad *et al*., 1992)

شکل ۱: تأثیر تنش شوری (کلریدسدیم ۵۰ میلیمولار) و تغذیه سیلیکونی (۱٫۰/۵ و میلیمولار) بر الف) وزن تر بخش هوایی، ب) وزن تر ریشه، ج) وزن خشک بخش هوایی و د) وزن خشک ریشه در گیاهچههای ۴۰ روزه لوبیا چیتی و لوبیا سبز. هر ستون شامل سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر خطای معیار (£5E) میباشد.

نتایج حاکی از آن بود که تحت تیمار شوری به طور معنیدار از غلظت پتاسیم در ریشههای هر دو رقم لوبیا و نیز در بخشهای هوایی لوبیا چیتی کاسته میشود (p<0.05) (شکل۳؛ ج و د). کاهش محتوای $\rm K^+$ در ریشههای هـر دو رقــم بـیش از بخشـهای هوایی بود: به ترتیب ۵۸ و ۱۶/۵٪ در لوبیا چیتی و ۴۲ و ۴٪ در لوبیا سبز. اضافه کردن سیلیکون به محیط کشت باعث افزایش معنیدار میزان \rm{K}^+ در ریشه و بخشهای هوایی لوبیا چیتی در مقایسه با تیمار شوری تنها شـد (p<0.05). تحـت تـنش كلريـد سدیم و موثرترین میزان سیلیکون (۱ میلی مولار)، تاثیر مثبت سیلیکون بر نگهداشت $\rm K^+$ در ریشهها و بخشهای هـوایی لوبیـا

مجله علمی - پژوهشی دانشگاه الزهرا(س)/ زیست شناسی کاربردی

چیتی به ترتیب ۲۹ و ۱۵٪ و در لوبیا سبز ۸ و ۳/۵٪ بهدست آمد.

شکل ۲: تأثیر تنش شوری (کلریدسدیم ۵۰ میلیمولار) و تغذیه سیلیکونی (۱۵+ و ۱میلیمولار) بر الف) محتوای کلروفیل کل، ب) نشت الکترولیتی غشاء، ج) غلظت پرولین و د) محتوای نسبی آب برگهای گیاهچههای ۴۰ روزه لوبیا چیتی و لوبیا سبز. هر ستون شامل سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر خطای معیار (£5±) میباشد.

شکل ۳: تأثیر تنش شوری (کلریدسدیم ۵۰ میلیمولار) و تغذیه سیلیکونی (۰/۵ و ۱ میلیمولار) بر الف) میزان⁸x بخش Na+ K⁺ K⁺ سبز. هر ستون شامل سه تکرار و بارهای عمودی نشانگر خطای معیار (£5E±) میباشد.

علاوه بر این، نتایج نشان داد در ریشههای لوبیا چیتی تاثیر مثبت سیلیکون بر نگهداشت K^+ در سـطح ۱ میلـی،سولار اخـتلاف معنی داری با سطح ۰/۵ میلی مولار دارد (p<0.05).

در تیمار شوری تنها، کاهش معنیدار غلظت $\rm K^+$ در ریشههای ارقام لوبیا –در مقایسه با بخشهای هوایی– میتواند گویای آن باشد که بافتهای ریشهای تامین کننده $\rm K^+$ مورد نیاز بخشهای هوایی در تنش شوری است، زیرا این اندامهای هوایی به ویـژه برگ@ا هستند که فعالانه در متابولیسمهای حیاتی گیاه به خصوص فتوسنتز شرکت داشته و تامین عناصر و مواد غـذایی بـرای آنها در الویت نقل و انتقالات قرار می5یرد. در عین حال، تاثیر سیلیکون بر افزایش میـزان $\rm K^+$ در ریشــههــا بــیش از انــدامهــای هوايي بود.

با مقایسه بیوماس (به عنوان موثرترین شاخص تحمل گیاه به تنش شوری) در این دو رقم، ملاحظه میشود که لوبیا چیتـی رقم حساستری به شوری است. علاوه بر این، نه تنها تجمع \rm{Na}^{+} در بافتهای لوبیا سبز — بهویژه در اندامهـای هـوایی– کمتـر از لوبیا چیتی بود بلکه میزان کاهش ٔ K آنها ¬بهویژه در اندامهای هوایی- نیز پایین تر بود. به دیگر سخن، بافتهای لوبیـا سـبز — بهویژه در اندامهای هوایی- به نحو موثرتری توانستهاند میزان $\rm K^+$ را در سلولهای تحت تنش، حفظ نمایند. ممکن است کمبود در اندامهای هوایی لوبیا سبز تا حدی با پتاسیم موجود در ریشهها برطرف شده باشد. معلوم شده است گلیکوفیتهـایی کـه $\rm K^+$ به شوری متحمل ترند از توانایی بالاتری در نگهداشت $\rm K^+$ و نیز کاهش تجمع $\rm Na^+$ در بافتهای خود برخوردارنـد، یعنــی مشــابه با حالتی که در لوبیا سبز دیده شد. با درنظر گرفتن این نکته می توان اذعان کرد که تحمل بالاتر لوبیا سبز به شـوری مـی توانـد ناشی از حفظ پتاسیم سیتوپلاسمی در این رقم باشد. همسو با این مطلب، برخی گزارشات نشان دادهاند کـه سـیلیکون نسـبت K+ /Na+ Zuccarini (Liang *et al*., 2003) استفاده از سیلیکون در گیاه لوبیا می¤واند اَفت محتوای K* ناشی از تنش شوری را بهویژه در ریشـههـا برطـرف نمایـد. در ایـن بین، اگرچه رقم لوبیا سبز در شرایط شوری رقم متحملتری بهنظر میرسید ولی در مقایسه با رقم لوبیا چیتی، کمترین تاثیر را از سودمندی تغذیه سیلیکونی به نمایش گذاشت.

نتيجه گيري کلي

در مجموع میتوان نتیجه گیری کرد که مفید بودن سیلیکون در کاهش اثرات منفی کلریدسدیم در دو رقـم لوبیـا سـبز و لوبیـا چیتی کاملاً یکسان نیست؛ چنانچه رقم حساستر به شوری (لوبیا چیتی) مزیت بیشتری از تغذیه سـیلیکونی عایـد خـود نمـود. علاوه بر این، به نظر میرسد سیلیکون در لوبیا چیتی تحمل به شوری را نه تنها از طریـق ممانعـت از ورود سـدیم اضـافی بـالا می,برد، بلکه همچنین با کاستن از نفوذپذیری غشاءهای سیتوپلاسمی و نیز نگهداشت بهتر محتوای نسـبی آب برگهـا، بـه نحـو موثری باعث ارتقای رشد گیاه تحت تنش شوری می شود.

منابع

اشکاوند، پ، طبری کوچکسرایی، م.، زرافشار، م. و قنبری، ا. ۱۳۹۵. اثر نـانوذرات سـیلیکا (NPs ۲SiO) روی صـفات رویشـی و فیزیولوژیکی نهال زالزالک زرد. علوم و فناوری چوب و جنگل (علـوم کشـاورزی و منــابع طبیعـی). دوره ۲۳ شــماره ۱، ص

 $9 - 81$

.

خواجه، م.، موسوی نیک، س. م.، سیروس مهر، ع.، یدالهی ده چشمه، پ. و امیری، ا. ۱۳۹۴. اثر تنش کم آبـی و محلـول یاشـی سیلیکون بر عملکرد و رنگیزه های فتوسنتزی گندم در منطقه سیستان. فیزیولوژی گیاهان زراعـی. دوره ۷ شـماره ۲۶، ص $.19 - \Delta$

- Ahmad, R., Zaheer, S.H. and Ismail, S. (1992) Role of silicon in salt tolerance of wheat (Triticum aestivum). Plant Science 85: 43-50.
- Ahmed, M., Asif, M. and Hassan, F. U. (2014) Augmenting drought tolerance in sorghum by silicon nutrition. Acta Physiologiae Plantarum 36(2): 473-483.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.
- Gong, H.J., Randall, D.P. and Flowers, T.J. (2006) Silicon deposition in the root reduces sodium uptake in rice seedlings by reducing bypass flow. Plant, Cell and Environment 29: 1970-1979.
- Haghighi, M., Afifipour, Z. and Mozafarian, M. (2012) The alleviation effect of silicon on seed germination and seedling growth of tomato under salinity stress. Vegetable Crops Research Bulletin 76: 119-126.
- Kaya, C., Tuna, A. L., Sonmez, O., Ince, F. and Higgs, D. (2009) Mitigation effects of silicon on maize plants grown at high zinc. Journal of Plant Nutrition 32(10): 1788-1798.
- Liang, Y.C., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W.H. and Ding, R.X. (2003) Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (Hordeum vulgare L.). Journal of Plant Physiology 160: 1157-1164.
- Munns, R., Husain, S., Rivelli, A. R., James, R., Condon, A. G., Lindsay, M., Lagudah, E., Shachtman, D. and Hare, R. (2002) Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically-based selection traits. Plant and Soil 247: 93-105.
- Neumann, D. and De Figueiredo, C. (2002) A novel mechanism of silicon uptake. Protoplasma 220: 59-67.
- Parveen, N. and Ashraf, M. (2010). Role of silicon in mitigating the adverse effects of salt stress on growth and photosynthetic attributes of two maize (Zea mays L.) cultivars grown hydroponically. Pakistani Journal of Botany 42(3): 1675-1684.
- Pavlovic, J., Samardzic, J., Maksimović, V., Timotijevic, G., Stevic, N., Laursen, K. H. ... and Nikolic, M. (2013) Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. New Phytologist 198(4): 1096-1107.
- Richmond, K.E. and Sussman, M. (2003) Got Silicon? The non-essential beneficial plant nutrition. Current Opinion in Plant Biology 6: 268-272.
- Rodrigues, F.A., Benhamou, N., Datnoff, L.E., Jones, J.B. and Be´langer, R.R. (2003) Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. Phytopathology, 93: 535 546.
- Roshandel, P. (2005) Physiology and gene expression of two genotypes of rice differing in tolerance to salinity. PhD thesis. Sussex University, Brighton, UK.
- Sharma, K.D. and Kuhad, M.S. (2006) Influence of Potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of Brassica Species. Brassica Journal 8: 71-74.
- Shi, Y., Zhang, Y., Yao, H., Wu, J., Sun, H. and Gong, H. (2014) Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. Plant Physiology and Biochemistry 78: 27-36.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV VIS spectroscopy. In: Current protocols in food analytical chemistry, F4.3.1-F4.3.8. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Tuna, A.L., kaya, G., Higgs, D., Bernardo, M.D., Aydemir, S. and Girgin, A.R. (2008) Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. Environmental and Experimental Botany 62:10-16.
- Wang, Y., Stass, A. and Horst, W. (2004) Apoplastic binding of aluminium is involved in silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in maize. Plant Physiology 136: 3762-3770.
- 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.
- Yin, L., Wang, S., Liu, P., Wang, W., Cao, D., Deng, X. and Zhang, S. (2014) Silicon-mediated changes in polyamine and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid are involved in silicon-induced drought resistance in Sorghum bicolor L. Plant Physiology and Biochemistry 80: 268-277.
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Askari, H., Hosseini, S. M., Rahaie, M. and Struve, D. (2015) Insignificant acute toxicity of SiO₂ nanoparticles to pear seedlings. International Journal of Nanoscience and Nanotechnology 11 (1): 13-22.
- Zhu, Z.J., Wei, G.Q., Li, J., Qian, Q.Q. and Yu, J.Q. (2004) Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (Cucumis sativus L.). Plant Science 167: 527-533.
- Zuccarini, P. (2008) Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of Phaseolus vulgaris under NaCl stress. Biologia Plantarum 52(1): 157- 160.

Silicon-mediated alleviation of salt stress in pinto and green bean varieties (*Phaseolus vulgaris* **L.)**

H. Nosrati¹, P. Roshandel^{*2}

Received: 2017.8.13 **Accepted: 2017.3.1**

Abstract

In the present study the effects of Si (0.5 and 1 mM) were investigated in two varieties of *Phaseolus vulgaris* (pinto bean and green bean) subjected to salinity (50 mM). Two series of experiments were separately conducted in completely randomized design for each of bean varieties and 12-day-old seedlings were introduced to the treatments which lasted for four weeks. The evaluated parameters were dry matters of the shoots and roots, total chlorophyll contents, membrane electrolyte leakage, proline and relative water that content of leaves, $Na⁺$ and K^+ concentrations in the shoots and roots. The results indicated salt stress significantly decreased biomass, K^+ level, total chlorophyll and relative water content of leaves, whilst the concentration of Na⁺, proline and membrane electrolyte leakage increased. Si nutrition caused a marked rise in biomass percentage of pinto bean, which was more than that of in green bean. Data analysis suggests Si increases salt tolerance in pinto bean by relatively blocking of $Na⁺$ entrance along with increasing relative water content of leaves and decreasing membrane electrolyte leakage in the leaves.

Keywords: K^+ /Na⁺ selectivity, pinto and green beans, salt tolerance, Si.

^{1.} Graduate master in plant physiology, Shahrekord University

^{2.} Assistant Professor, Biology Department, Faculty of Sciences, Shahrekord University

⁽Corresponding Author: roshandelparto@gmail.com)