



دانشگاه گوارش و صنایع گیاهی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۹

۱۰۳-۱۱۹

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2020.16265.2475

برهمکنش آهن و سیلیسیم بر برخی از صفات زیست-شیمیایی نخودفرنگی (*Pisum sativum* cv. Wando) در شرایط گلخانه‌ای

املیلا عباسپور شاهمرس^۱، فرزاد رسولی^۲، فرهاد بهتاش^۲ و احمد آقایی^۳

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح سبزی گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران،

^۲استادیار فیزیولوژی و اصلاح سبزی گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران،

^۳استادیار زیست‌شناسی گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۰۴

چکیده

سابقه و هدف: نخودفرنگی گیاهی علفی، یک‌ساله و دارای طول عمر کوتاه و با نام علمی (*Pisum sativum* L.) می‌باشد. هر چند وجود برخی فلزات سنگین هم‌چون آهن، در محلول غذایی یا خاک برای رشد طبیعی گیاهان ضروری می‌باشد غلظت‌های زیاد این عناصر از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القا تنش اکسیداتیو می‌تواند عاملی برای بازدارندگی رشد و ایجاد علائم سمیت گردد. از طرف دیگر سیلیسیم می‌تواند باعث افزایش تولید و کیفیت محصولات در شرایط تنش ناشی از سمیت فلزات سنگین مانند آهن، منگنز و آلومینیوم در گیاهان شده و بر تحریک تولید برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتز تأثیر مثبت می‌گذارد. در این پژوهش اثرات سیلیسیم در حضور مقادیر مختلف آهن بر فعالیت برخی خصوصیات زیست-شیمیایی در نخودفرنگی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با کاربرد سیلیسیم در سه سطح (۰، ۱۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر) از منبع متاسیلیکات سدیم ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) و آهن در سه سطح (۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر) از منبع کلات آهن با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا گردید. محلول غذایی مورد استفاده، محلول هوگلند تغییر یافته بود که، مقادیر یاد شده سیلیسیم و آهن به آن اضافه شده و سپس مصرف گردید. صفات زیست-شیمیایی هم‌چون کلروفیل کل، پروتئین محلول کل، میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، غلظت پراکسید هیدروژن و فعالیت ویژه آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثرات برهمکنش بین آهن و سیلیسیم بر کلروفیل کل، پروتئین، پراکسید هیدروژن، CAT و APX معنی‌دار شده است. با افزایش غلظت آهن میزان کلروفیل و پروتئین کاهش پیدا کرده اما سیلیسیم باعث افزایش آن‌ها شده است و به عبارت دیگر با کاربرد سیلیسیم اثرات تنش ایجاد شده توسط غلظت بالای آهن تقلیل پیدا کرد. در برهمکنش آهن و سیلیسیم بر میزان پراکسید هیدروژن، آهن باعث افزایش و سیلیسیم باعث کاهش آن در تمامی سطوح تیمارها شده است. هر دو تیمار آهن و سیلیسیم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های CAT و APX شده است. اما اثرات متقابل تیمارها بر روی صفات فعالیت ویژه

* مسئول مکاتبه: farrasoli@gmail.com

GPX و مالون‌دی‌آلدهید معنی دار نبود بلکه اثرات ساده آهن و سیلیسیم باعث تغییرات معنی دار در آن‌ها شدند به طوری که آهن در هر دو باعث افزایش شده ولی سیلیسیم باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید و افزایش GPX شده است.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مشاهده شده می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های بالای آهن در گیاه نخودفرنگی، هم‌چون بیش‌تر گیاهان باعث افزایش تنش اکسیداتیو شده و سیلیسیم تا حدودی اثرات مخرب این نوع تنش را کاهش داده است. پس می‌توان از سیلیسیم به‌عنوان یک عنصر مفید در کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی مورد مطالعه و استفاده قرار بگیرد. بر اساس این پژوهش می‌توان گفت آهن با غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر و سیلیسیم با غلظت ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر بهترین اثر را در بهبود برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی نخودفرنگی داشته است.

واژه‌های کلیدی: تنش اکسیداتیو، تنش زیستی، رادیکال‌های آزاد، سمیت عناصر

مقدمه

و ایجاد علایم سمیت گردد (۱۷). در خاک‌های غرقاب به‌دلیل ازدیاد غلظت آهن دو ظرفیتی، سمیت به‌وجود آمده و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (۲۳) که یکی از دلایل حساسیت نخودفرنگی به کشت در خاک‌های غرقابی می‌باشد (۱۵) نتیجه تنش اکسیداتیو ناشی از سمیت آهن در گیاهان کاهش میزان پروتئین‌ها، قندهای محلول، کلروفیل و صدمات برگشت‌ناپذیر به غشاهای زیستی و اسیدهای نوکلئیک است که توسط بسیاری از پژوهشگران گزارش شده است (۸). سمیت آهن یکی از مشکلات مطرح در شالیزارهای مختلف دنیا است که عملکرد برنج را از ۱۲ تا ۱۰۰ درصد کاهش داده است (۵). مطالعات انجام‌شده روی مرزنجوش (*Origanum vulgare*) نشان داده است که افزایش غلظت آهن در محیط سبب کاهش محتوی اسانس در این گیاه گردیده است (۳۷). سیلیسیم در گیاهان به‌عنوان یک عنصر غیرمتحرک است که ضروری تلقی نمی‌شود، ولی برای رشد و نمو طبیعی برخی از گیاهان عالی مهم و مفید است. سیلیسیم به‌عنوان عنصری که باعث کاهش انواع تنش‌ها مانند سمیت عناصر، شوری، خشکی و سرمازدگی می‌شود، شناخته شده است (۲۰) و این عنصر می‌تواند باعث افزایش تولید و کیفیت محصول در شرایط تنش ناشی از سمیت فلزات سنگین مانند

نخودفرنگی گیاهی علفی، یک‌ساله و دارای طول عمر کوتاه و با نام علمی (*Pisum sativum* L.) متعلق به خانواده بقولات می‌باشد. گیاهان این خانواده از دسته میوه‌های غلاف‌دار بوده که بهترین نتیجه را در آب و هوای خنک می‌دهد. آهن یکی از عناصر ضروری اما کم‌مصرف و کم‌تحرک برای گیاهان است. امروزه به‌منظور افزایش بازده فرآورده‌های گیاهی و بهبود کیفیت آن‌ها، گرایش برای به‌کارگیری کودهای عناصر کم‌مصرف در میان کشاورزان رواج یافته است. یکی از روش‌های عملی و دقیق‌تر مطالعه اثرات و برهمکنش عناصر غذایی شرایط هیدروپونیک در مقایسه با شرایط خاکی است (۳) و به‌عبارت دیگر هیدروپونیک یک روش قابل‌اعتماد برای تعیین بهترین غلظت عناصر غذایی می‌باشد. آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیدان و احیاء است و نقش آن در فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (۷). هر چند وجود برخی فلزات سنگین از جمله آهن، در خاک برای رشد طبیعی گیاهان ضروری می‌باشد غلظت‌های زیاد این عناصر از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القا تنش اکسیداتیو می‌تواند عاملی برای بازدارندگی رشد

خریداری شد. از گلدان‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری به‌عنوان ظروف کاشت و از ماسه به‌عنوان بستر کاشت استفاده گردید. محلول غذایی مورد استفاده محلول هوگلند تغییر یافته بود (جدول ۱). pH محلول غذایی به‌وسیله pH متر در ۶/۵ تنظیم گردید. محلول غذایی به‌صورت دستی به پای گیاهان درون بسترهای کشت منتقل شدند. محلول‌دهی براساس وضعیت گیاه و شرایط محیطی (دما و رطوبت) به‌طور متوسط هر سه روز یک‌بار انجام می‌گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل، سیلیسیم در سه سطح (۰، ۱۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر) از منبع متاسیلیکات سدیم ۵ آبه ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) و عامل آهن در سه سطح (۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر) از منبع کلات آهن یا Fe-EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeN}_2\text{O}_8$) در سه تکرار در گلخانه با دمای ۱۲ تا ۱۵ °C شبانه و دمای ۱۸ تا ۲۴ °C تهویه از طریق پنجره‌های جانبی و دارای سیستم فن و پد اجرا گردید. بذور در اواسط اسفندماه کشت شدند و هر واحد آزمایشی شامل سه گلدان بود. محلول غذایی مورد استفاده، محلول هوگلند تغییر یافته بود که بعد از تهیه محلول هوگلند، مقادیر یادشده سیلیسیم و آهن به محلول هوگلند اضافه شده و سپس مصرف گردید. تیمارهای موردنظر از زمان چهار برگی گیاهان اعمال گردیدند و محلول‌دهی با توجه به شرایط محیطی (دما و رطوبت) به‌صورت روزانه و یا یک روز در میان انجام می‌گرفت، لازم به ذکر است که مدت زمان کاشت تا برداشت تقریباً سه ماه به‌طول انجامید. از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی یک گیاه انتخاب گردید و صفات موردنظر مورد تجزیه و ارزیابی قرار گرفت.

آهن، منگنز و آلومینیوم در گیاهان شده و افزایش تحریک تولید برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود و بر فتوسنتز تأثیر مثبت می‌گذارد (۳). پژوهشگران گزارش کردند که در صورت کمبود سیلیسیم در برنج مقدار کلروفیل کم شده و در نتیجه آن فتوسنتز در گیاه کاهش می‌یابد آنان دلیل این امر را نقش سیلیسیم در زنجیره فتوسنتزی و ممانعت از تخریب کلروفیل توسط سیلیسیم دانستند (۲). گزارش شده است سازوکارهایی که باعث کاهش اثرات تنش و سمیت فلزات سنگین توسط سیلیسیم می‌شوند شامل تحریک سیستم آنتی‌اکسیداتیو در گیاه، تشکیل کمپلکس فلزات سنگین با سیلیسیم، غیرمتحرک شدن فلزات سنگین در محیط رشد توسط Si، تأثیر Si در مراحل جذب فلزات سنگین و انتقال فلزات سنگین به اندامک‌هایی مانند واکوئل سلول‌های گیاهی توسط Si، می‌باشند (۲۱). در این پژوهش با کاربرد غلظت‌های مختلف آهن در شرایط هیدروپونیک، از طرفی یکی از اهداف انتخاب بهترین غلظت آهن جهت پرورش نخود فرنگی در شرایط هیدروپونیک و گلخانه‌ای و از طرف دیگر در صورت سمیت آهن به‌عنوان یکی از فلزات سنگین، نقش سیلیسیم جهت کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ایجاد شده با بررسی برخی خصوصیات زیست-شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. به‌طورکلی در این آزمایش با استفاده از کشت هیدروپونیک برهمکنش و تعاملات دو عنصر غذایی آهن و سیلیسیم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه انجام گرفت. بذر نخودفرنگی رقم Wando از شرکت ASGrow کشور آمریکا با خلوص ۹۹ درصد و قابلیت جوانه‌زنی ۸۵ درصد

جدول ۱- ترکیب و غلظت عناصر غذایی در محلول هوگلند تغییر یافته.

Table 1. Composition and concentration of ingradient nutrition in modified Hoogalnd.

غلظت (میلی‌گرم بر لیتر) Concentration (mg l ⁻¹)	نوع نمک Nutrtion ingradient	غلظت (گرم بر لیتر) Concentration (g l ⁻¹)	نوع نمک Nutrtion ingradient
2.86	اسید بوریک H ₃ BO ₃	0.47	نیترات کلسیم Ca (NO ₃) ₂ .4H ₂ O
1.81	کلورور منگنز MnCl ₂ .4H ₂ O	0.3	نیترات پتاسیم KNO ₃
0.22	سولفات روی ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.25	سولفات منیزیم MgSO ₄ .7H ₂ O
0.08	سولفات مس CuSO ₄ .5H ₂ O	0.06	فسفات آمونیوم NH ₄ H ₂ PO ₄
		0.1	کلات آهن Fe chellate

استاندارد به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس گردیده و به مدت ۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. آلبومن سرم گاوی (BSA) جهت ترسیم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با روش ابی (۱۹۸۴) و بر اساس مصرف پراکسید هیدروژن (H₂O₂) و کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱). مخلوط واکنش شامل ۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۷۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H₂O₂) ۷۰ میلی‌مولار و عصاره پروتئینی بود. ضریب خاموشی معادل ۳۹/۴ mM cm⁻¹ در محاسبه آنزیم در نظر گرفته شد.

گایاکول پراکسیداز: فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به روش چانس و میهلی (۱۹۵۵) اندازه‌گیری گردید (۱۰). مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر H₂O₂ (۷۰ میلی‌مولار)، ۷۵۰ میکرولیتر

کلروفیل کل: اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی به روش آرنون (۱۹۷۴) انجام شد (۴). ۰/۱ گرم ماده گیاهی به همراه ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد درون هاون چینی ساییده شد و نهایتاً عصاره همگنی به دست آمد. نمونه‌های حاصله در g × ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. جذب محلول رویی توسط دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (UV-1800 Shimadzu, Japan) در طول موج‌های ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد.

پروتئین کل: میزان پروتئین محلول کل به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد (۹). یک گرم از برگ تازه را با کمک نیتروژن مایع در داخل هاون آسیاب کرده و به آن ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار pH=7 اضافه گردید سپس محلول حاصل در g × ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید سپس از عصاره تهیه شده ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و با ۱۰۰ میکرولیتر محلول برادفورد و ۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم با همدیگر در داخل یک میکروتیوب ریخته شده و تمامی این نمونه‌ها و نمونه‌های

به مدت ۱۰ دقیقه، جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ در سه طول موج ۴۴۰، ۵۳۲، ۶۰۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی 155 mM cm^{-1} نیز در محاسبه غلظت MDA لحاظ گردید.

پراکسید هیدروژن: جهت اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن نمونه‌ها از روش ولیکوا و همکاران (۱۹۴۹) استفاده شد (۳۶). ۰/۱ گرم نمونه گیاهی به کمک ۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد اسید تری کلرو استیک (TCA) درون هاون چینی عصاره‌گیری شد و به داخل میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته شد. مخلوط حاصله به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در ادامه ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به میکروتیوب‌های جدید ریخته شد و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم (KI) ۱ مولار (۴۹/۸ گرم یدید پتاسیم در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر قرائت گردید. از غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن برای ترسیم منحنی استاندارد و محاسبه مقدار پراکسید هیدروژن استفاده شد.

داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C ver. 2.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گردید. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 رسم شدند.

گایاگول (۱۰ میلی‌مولار) و عصاره پروتئینی خام بود، جذب محلول واکنش در طول موج ۴۷۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی معادل 2676 mM cm^{-1} در محاسبه فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد.

آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز APX با روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) سنجش گردید (۲۶). مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر آسکوربات (۲ میلی‌مولار) ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار)، ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۲ میلی‌مولار) و عصاره گیاهی بود که با واکنش پراکسید هیدروژن (H_2O_2) همراه با کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر قرائت شد. ضریب خاموشی $2/8 \text{ mM cm}^{-1}$ در محاسبه غلظت APX لحاظ گردید.

مالون‌دی‌آلدهید: اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها به روش هیت و پکر (۱۹۶۸) انجام شد (۱۴). ۰/۱ گرم ماده گیاهی در هاون چینی به‌وسیله ۱/۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک (TCA) ۰/۱ درصد (بر روی یخ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) ساییده شد. همگنای حاصله در $10000 \times \text{g}$ و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک (TBA) اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد درون بن‌ماری فرار گرفت. بلافاصله بعد از اتمام مدت زمان مذکور، نمونه‌ها درون حمام یخ قرار گرفتند تا واکنش خاتمه یابد. بعد از سانتریفیوژ نمونه‌ها در $10000 \times \text{g}$

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات آهن و سیلیسیم بر کلروفیل a, b و کل، پروتئین و مالوندی‌آلدئید.

Table 2. Analysis variance of Fe and Si effects on chlorophyll a, b and total, protein and MDA.

میانگین مربعات Mean of squares					درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of variance
مالوندی‌آلدئید Malone dialdehyde	پروتئین Protein	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a		
0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.035	2	بلوک Block
4.558 ^{**}	0.049 ^{**}	27.775 ^{**}	19.620 ^{**}	0.910	2	آهن Fe
1.483 ^{**}	0.940 ^{**}	48.519 ^{**}	19.302 ^{**}	7.211	2	سیلیسیم Si
0.030 ^{ns}	0.011 ^{**}	7.203 ^{**}	3.86 ^{**}	0.650	4	آهن × سیلیسیم Fe×Si
0.018	0.001	0.022	0.026	0.014	16	خطا Error
5.45	2.32	3.26	7.17	2.06		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

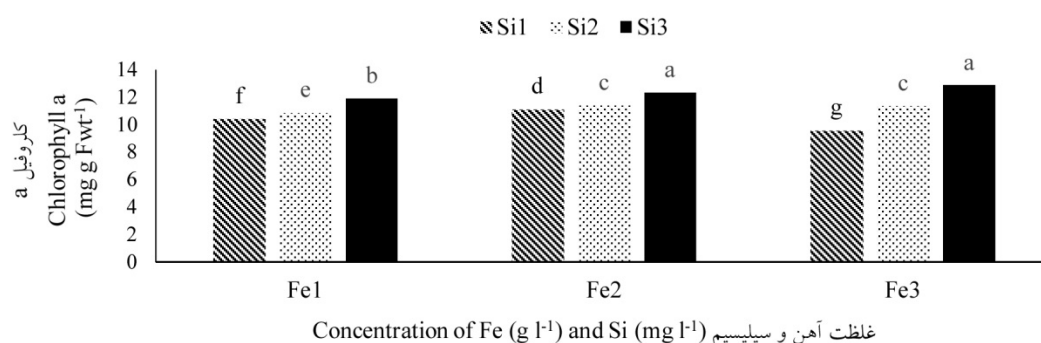
*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و غیرمعنی‌دار.

*, ** and ^{ns} significant at 0.05, 0.01 and Non-significant, respectively.

نتایج و بحث

کلروفیل a, b و کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که کاربرد اثرات متقابل سیلیسیم و آهن بر میزان کلروفیل a, b و کلروفیل کل از نظر آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود. بیش‌ترین مقدار کلروفیل a در تیمار ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر آهن همراه با ۱۴ و ۱۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم مشاهده

گردید و از طرف دیگر کم‌ترین مقدار کلروفیل a مربوط به غلظت ۰/۳ گرم بر لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم بود که نشان از سمیت آهن می‌باشد. هم‌چنان‌که از مقایسه میانگین‌ها مشاهده می‌شود افزایش سیلیسیم موجب افزایش غلظت کلروفیل a شده است و هم‌چنین در برهمکنش با آهن نیز در تمامی غلظت‌ها افزایش یافت (شکل ۱).

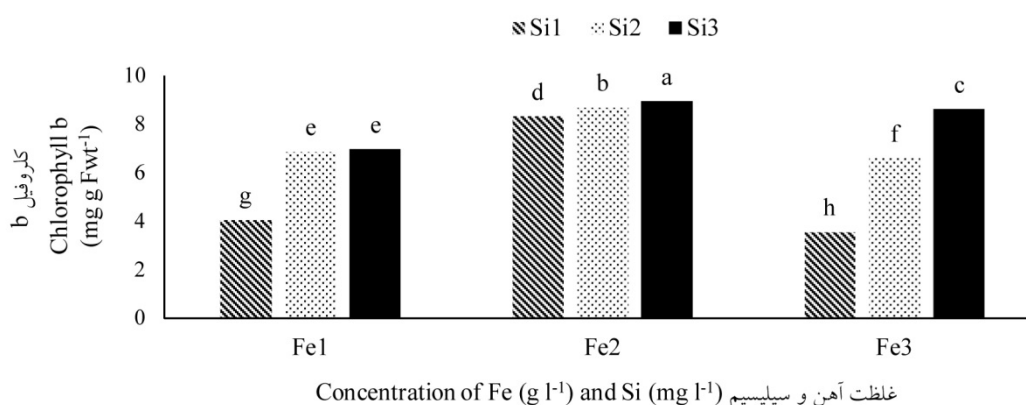


شکل ۱- اثر متقابل سطوح مختلف آهن و سیلیسیم بر غلظت کلروفیل a برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف لاتین متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 1. Interaction of Fe and Si on leaf chlorophyll a content. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم به ۶/۸۸ و ۶/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمارهای ۰/۰۵ و ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر آهن و ۱۴ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم به صورت معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد سیلیسیم نتوانست کاهش کلروفیل **b** در غلظت ۰/۳ گرم بر لیتر آهن را همانند غلظت‌های پایین‌تر جبران نماید.

بیش‌ترین میزان کلروفیل **b** برگ مربوط به تیمار ۰/۱ گرم بر لیتر کلات آهن و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم و کم‌ترین مقدار هم مربوط به تیمار ۰/۳ گرم بر لیتر آهن و صفر میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم بود. مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) نشان داد که با افزایش غلظت سیلیسیم در محلول غذایی میزان کلروفیل **b** از ۴/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار ۰/۰۵ گرم بر



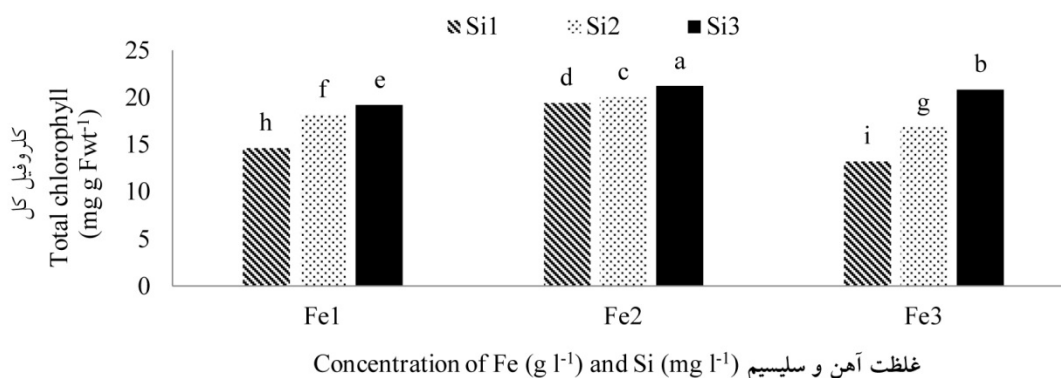
شکل ۲- اثر متقابل سطوح مختلف آهن و سیلیسیم بر غلظت کلروفیل **b** برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف لاتین متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.
Fig. 2. Interaction of Fe and Si on leaf chlorophyll b content. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

محلول غذایی میزان کلروفیل کل در تیمار ۰/۱ گرم بر لیتر آهن نسبت به تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر افزایش یافت ولی افزایش غلظت آهن، موجب کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل شد. با کاربرد سیلیسیم میزان کلروفیل کل در تمامی غلظت‌های آهن حتی بالاترین غلظت که باعث کاهش کلروفیل شده بود، افزایش داد (شکل ۳). کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آن‌ها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش‌ماده‌های تولید کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز

براساس نتایج مشاهده گردید که بیش‌ترین کلروفیل کل برگ نخودفرنگی مربوط به تیمار ۰/۱ گرم بر لیتر آهن و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم و کم‌ترین مقدار هم مربوط به تیمار ۰/۳ گرم بر لیتر آهن و بدون کاربرد سیلیسیم بود. با افزایش غلظت سیلیسیم در محلول غذایی میزان کلروفیل کل از ۱۴/۷۰۳ در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن و بدون سیلیسیم به ۱۸/۲۳۷ و ۱۹/۲۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمارهای ۱۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم و ۰/۰۵ گرم بر لیتر به صورت معنی‌داری افزایش یافت. هم‌چنین با افزایش غلظت آهن در

نتیجه در برگ‌ها می‌شود، که به نوبه خود در دستگاه فتوسنتزی گیاهان تأثیر می‌گذارد با توجه به این‌که، این مواد مغذی با سنتز پروتئین‌های درگیر در زنجیره انتقال الکترون و دیگر جنبه‌های فتوسنتز مرتبط هستند کاهش غلظت آن‌ها موجب کاهش رشد گیاه می‌شود (۲۲). از جمله دلایل افزایش میزان کلروفیل در تیمار سیلیسیم می‌توان به تأثیر سیلیسیم در افزایش کارایی فتوسیستم II اشاره کرد که در گیاه گوجه‌فرنگی گزارش شده است (۳). پژوهشگران چینی در پژوهشی گزارش کردند که کاربرد سیلیسیم در محلول غذایی خیار، باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ خیار تحت تنش منگنز شد (۳۳).

کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز باشد (۲۸). در بررسی اثر آهن روی نخود کاهش در میزان رشد و فتوسیستم II با افزایش غلظت آهن (در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده شد دلیل آن این است که غلظت زیاد آهن موجب شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن شده، که می‌تواند علت کاهش رشد و تأثیر بر فعالیت دستگاه فتوسنتزی باشد (۲۷). غلظت‌های سمی آهن موجب کاهش رشد و کارایی فتوسیستم II در کلم بروکلی شد (۲۹). پژوهشگران بیان کردند که غلظت بالای آهن در بستر رشد موجب کاهش غلظت یون‌هایی مانند کلسیم، منیزیم، فسفر و منگنز در مریستم‌ها و در



شکل ۳- اثر متقابل سطوح مختلف آهن و سیلیسیم بر غلظت کلروفیل کل در برگ. Fe1 (0.05)، Fe2 (0.1)، Fe3 (0.3)، Si1 (0)، Si2 (14) و Si3 (28) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف لاتین متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

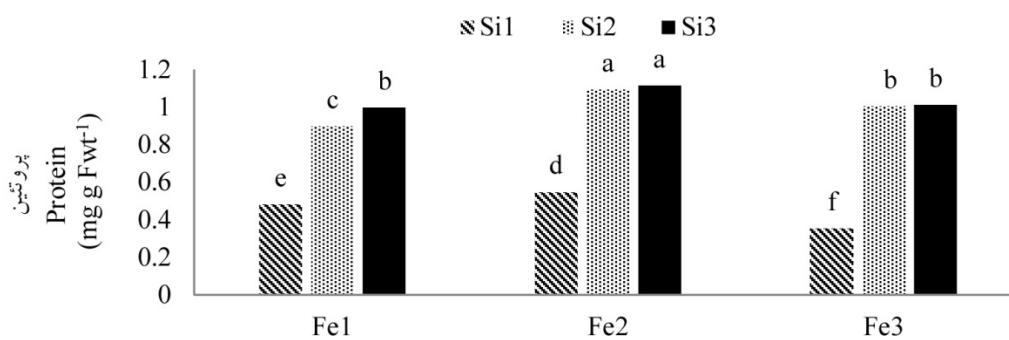
Fig. 3. Interaction of Fe and Si on leaf total chlorophyll content. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

سیلیسیم بود. مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴) نشان داد که با افزایش غلظت سیلیسیم در محلول غذایی میزان پروتئین محلول کل از ۰/۴۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن و بدون کاربرد سیلیسیم به ۰/۸۹۷ و ۰/۹۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمارهای ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن و ۱۴ و

پروتئین: براساس نتایج تجزیه واریانس برهمکنش آهن و سیلیسیم در مقدار پروتئین معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین میزان پروتئین محلول کل در برگ مربوط به تیمار ۰/۱ گرم بر لیتر آهن و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم و کم‌ترین مقدار هم مربوط به تیمار ۰/۳ گرم بر لیتر آهن و صفر میلی‌گرم بر لیتر

پروتئین‌ها را ناپایدار کند (۶). همچنین در پژوهشی روی گیاه برنج تحت تیمار آهن به این نتیجه رسیدند، که بیشبود آهن سبب کاهش میزان پروتئین در گیاه شد، این پژوهشگران چنین بیان کردند که به احتمال زیاد افزایش فعالیت پروتئاز در شرایط تنش دلیل کاهش پروتئین باشد (۲۳). از طرف دیگر افزایش میزان پروتئین محلول کل در اثر اعمال سیلیسیم در پژوهش‌های متعددی از جمله در گندم تحت تنش خشکی (۱۲) و همچنین در خیار (۳۸)، گوجه‌فرنگی (۳) و ذرت (۲۵) تحت تنش شوری گزارش شده است که به‌نظر می‌رسد افزایش پروتئین در تیمار سیلیسیم، به‌دلیل سنتز پروتئین‌های جدید و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با سازگاری و تطابق گیاه به شرایط تنش باشد که می‌توان به شرایط ضد اکسندگی اشاره کرد که در تیمار با سیلیسیم به‌میزان زیاد افزایش پیدا کرده است (۳۳).

۱۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم افزایش یافت که اختلاف بین هر سه تیمار معنی‌دار بود. با افزایش غلظت کلات آهن در محلول غذایی میزان پروتئین محلول کل ابتدا در تیمار ۰/۱ گرم بر لیتر بدون کاربرد سیلیسیم نسبت به تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن و بدون سیلیسیم افزایش یافت اما در غلظت بالاتر آهن به‌میزان پروتئین کاهش پیدا کرد (شکل ۴). در صورت کاربرد سیلیسیم در محلول غذایی میانگین پروتئین محلول در تمامی تیمارهای آهن افزایش یافت حتی اثر غلظت زیاد آهن را جبران نموده و پروتئین کل بیش‌تر از تیمارهای آهن بدون سیلیسیم بود. در شرایط سمیت آهن عدم ختنی‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش پراکسید هیدروژن منجر به افزایش واکنش‌های فتون و هابر وایس می‌شود که طی آن رادیکال‌های خطرناک هیدروکسیل تولیدشده، که می‌تواند به‌صورت پی در پی انواع مولکول‌های درشت زیستی چون لیپیدها و



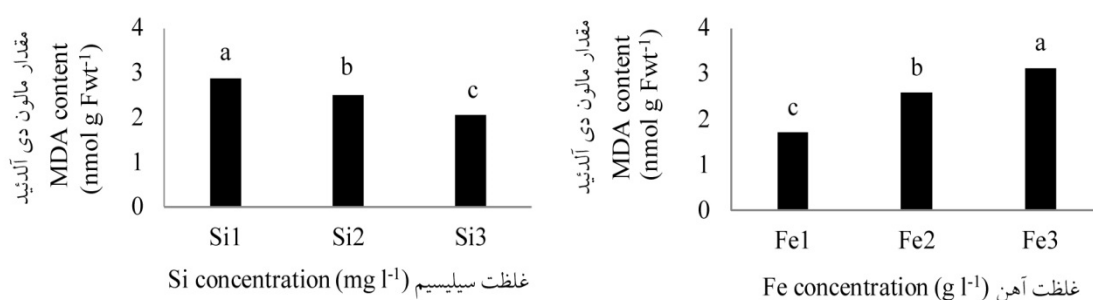
غلظت آهن و سیلیسیم (Concentration of Fe (g l⁻¹) and Si (mg l⁻¹))

شکل ۴- اثر متقابل آهن و سیلیسیم بر میزان پروتئین کل محلول برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر میانگین‌های دارای حروف لاتین متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 4. Interaction of Fe and Si on leaf total protein content. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

پلاسمایی هستند و در نهایت تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع به دلیل فعالیت پراکسیدی صورت گرفته و یون‌های پراکسید و مالون‌دی‌آلدئید آزاد می‌شود که باعث آسیب به غشا و در نهایت مرگ سلول می‌شوند (۱۱). در پژوهشی گزارش کردند که غلظت آهن در ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در گیاه برنج موجب افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید شد (۲۳). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۵) مشاهده گردید که در اثر کاربرد سیلیسیم غلظت مالون‌دی‌آلدئید از ۲/۸۶۷ نانومول بر گرم وزن تر در محلول غذایی هوگلند بدون سیلیسیم به ۲/۴۸۹ و ۲/۰۵۶ نانومول بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمارهای ۱۴ و ۱۸ به صورت معنی‌دار کاهش یافت. افزودن سیلیسیم به محیط رشد گیاه نفوذپذیری دیواره پلاسمای سلول‌های برگ را کاهش داده و باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید می‌شود و سیلیسیم از دیواره سلولی در شرایط تنش شوری و خشکی محافظت نموده و از تخریب آن جلوگیری می‌کند (۱۹).

مالون‌دی‌آلدئید (MDA): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل آهن و سیلیسیم بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود ولی اثرات ساده هر دو تیمار معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۵) نشان داد که با افزایش غلظت کلات آهن در محلول غذایی، غلظت مالون‌دی‌آلدئید از ۱/۷۱۱ نانومول بر گرم وزن تر در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن به ۲/۵۸۷ و ۳/۱۲۲ نانومول بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمارهای ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر آهن رسید. که اختلاف بین هر سه تیمار معنی‌دار بود. بیش‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید مربوط به تیمار ۰/۳ گرم بر لیتر کلات آهن می‌باشد که بیانگر وارد شدن تنش به گیاه بود. مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در نتیجه تجزیه اسیدهای چرب اشباع نشده حاصل می‌شود بنابراین به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای تشخیص پراکسیداسیون لیپید محسوب می‌شود (۱۳). تجمع غلظت‌های زیاد فلزات سنگین جرقه تولید گونه‌های فعال اکسیژن را می‌زند. گونه‌های فعال اکسیژن به‌وجود آورنده صدمات اکسیداتیو به غشای



شکل ۵- اثر سطوح مختلف آهن و سیلیسیم بر غلظت مالون‌دی‌آلدئید برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف لاتین متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 5. The effect of different levels of Fe and Si on leaf MDA concentrations. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثرات آهن و سیلیسیم بر پراکسید هیدروژن، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز.

Table 3. Analysis variance of Fe and Si effects on H₂O₂, CAT, GPX and APX.

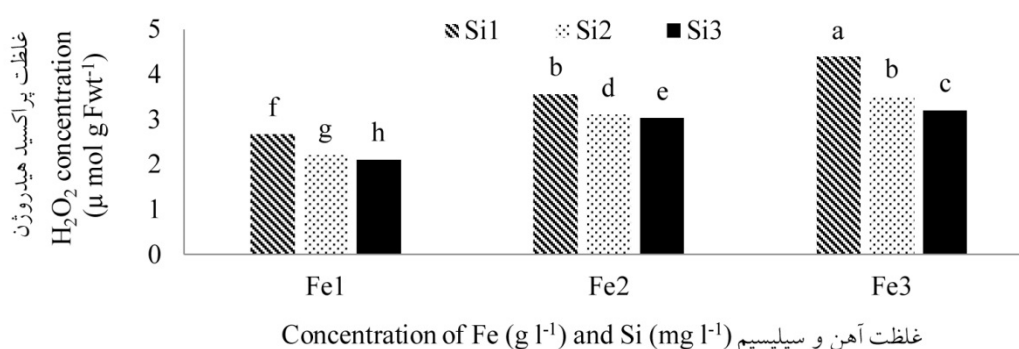
میانگین مربعات Mean of squares				درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of variance
آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکول پراکسیداز GPX	کاتالاز CAT	پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂		
0.003 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.008 ^{ns}	0.001 ^{ns}	2	بلوک Block
2.417 ^{**}	0.076 ^{**}	3.465 ^{**}	4.443 ^{**}	2	آهن Fe
0.987 ^{**}	0.270 ^{**}	1.483 ^{**}	1.44 ^{**}	2	سیلیسیم Si
0.227 ^{**}	0.001 ^{ns}	0.216 ^{**}	0.106 ^{**}	4	آهن × سیلیسیم Fe × Si
0.004	0.001	0.002	0.002	16	خطا Error
8.88	4.12	3.99	3.42		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و غیرمعنی دار.

*، ** and ^{ns} significant at 0.05, 0.01 and Non-significant, respectively.

افزایش غلظت آهن ایجاد شده بود، به صورت معنی داری کاهش یافت. اندازه گیری H₂O₂ در شرایط تنش مهم می باشد، زیرا پیش ماده تعدادی از رادیکال های فعال اکسیژن مانند رادیکال هیدروکسیل (OH⁻) می باشد، که اکسیدکننده قوی محسوب می شوند (۱۲). غلظت زیاد بسیاری از فلزات سنگین از جمله آهن در داخل سلول ممکن است سبب تولید رادیکال های آزاد اکسیژن مثل آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل و نیز ایجاد پراکسید هیدروژن بیش تر شود (۶). طی پژوهشی روی گیاه ذرت افزایش در غلظت H₂O₂ تحت تنش شوری گزارش شده که در اثر افزودن سیلیسیم به محیط کشت، کاهش معنی داری در غلظت H₂O₂ مشاهده شد. دلیل آن را این گونه بیان کردند که سیلیسیم از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سبب محافظت بافت های گیاهی در برابر خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری شد (۲۵).

پراکسید هیدروژن (H₂O₂): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف آهن و سیلیسیم در محلول غذایی تأثیر معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر غلظت پراکسید هیدروژن داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین ها نشان داد (شکل ۶) که با افزایش سیلیسیم در محلول غذایی، میانگین غلظت H₂O₂ از ۲/۶۸ میکرومول بر گرم وزن تر در تیمار ۰/۰۵ گرم بر آهن و بدون سیلیسیم به ۲/۲۱ و ۲/۱۱ به ترتیب در تیمارهای ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن و ۱۴ و ۱۸ میلی گرم بر لیتر سیلیسیم به صورت معنی دار کاهش یافت. همچنین مشاهده گردید که با افزایش غلظت کلات آهن در محلول غذایی غلظت پراکسید هیدروژن از ۲/۶۸ میکرومول بر گرم وزن تر در تیمار ۰/۰۵ گرم بر آهن و بدون سیلیسیم به ۳/۵۷ و ۴/۴۰ میکرومول بر گرم وزن تر به ترتیب در تیمارهای ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر آهن بدون سیلیسیم افزایش یافت که اختلاف بین هر سه تیمار معنی دار بود. به طور کلی با افزایش سیلیسیم، مقادیر بالای H₂O₂ که در اثر

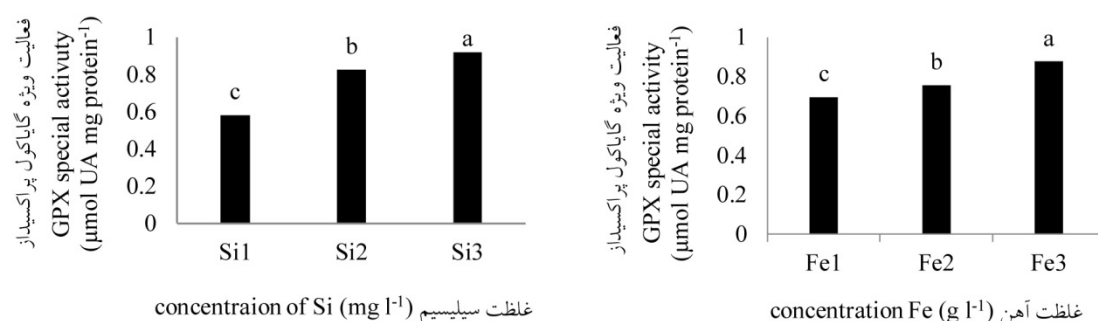


شکل ۶- اثر متقابل آهن و سیلیسیم بر غلظت پراکسید هیدروژن برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 6. Interaction of Fe and Si on leaf H₂O₂ concentration. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters was has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

۰/۹۱۷ میلی‌مول واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین به‌ترتیب در تیمارهای ۱۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم افزایش یافت که اختلاف بین هر سه تیمار معنی‌دار بود (شکل ۷). محل فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سیتوزول، دیواره سلولی، واکوئل و فضای بین‌سلولی می‌باشد و در شرایط شوری و سمیت فلزات سنگین فعالیت گایاکول پراکسیداز به‌عنوان نشانگر زیستی برای بیان شدت تنش به‌کار می‌رود (۳۱) به این ترتیب گایاکول پراکسیداز به‌عنوان آنزیم تنش‌تلقی می‌شود. فعالیت ویژه آنزیم گایاکول پراکسیداز با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث خنثی‌سازی و کاهش انواع اکسیژن‌های فعال می‌شود (۲۴). افزایش پراکسیداز تحت سمیت فلزات سنگین مانند کادمیم، روی و آهن گزارش شده است. حضور سیلیسیم (در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر آهن) در ریشه و بخش هوایی گیاه برنج موجب افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد (۱۸).

فعالیت ویژه گایاکول پراکسیداز (GPX): بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهده شد که برهمکنش آهن و سیلیسیم بر روی فعالیت ویژه GPX معنی‌دار نبود ولی اثرات ساده تیمارهای آهن و سیلیسیم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). با افزایش غلظت کلات آهن فعالیت ویژه GPX در برگ نخودفرنگی افزایش یافت. بر اثر کاربرد آهن فعالیت ویژه GPX از ۰/۶۹۴ در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن به ۰/۷۵۶ و ۰/۸۷۶ میلی‌مول واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین به‌ترتیب در تیمار ۰/۱ گرم بر لیتر آهن و ۰/۳ گرم بر لیتر آهن افزایش یافت که اختلاف بین هر سه تیمار معنی‌دار بود. از طرف دیگر با کاربرد سیلیسیم فعالیت ویژه GPX در برگ نخودفرنگی نسبت به تیمار بدون سیلیسیم افزایش یافت. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها با کاربرد سیلیسیم فعالیت ویژه GPX از ۰/۵۸۲ در تیمار صفر میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم به ۰/۸۲۷ و

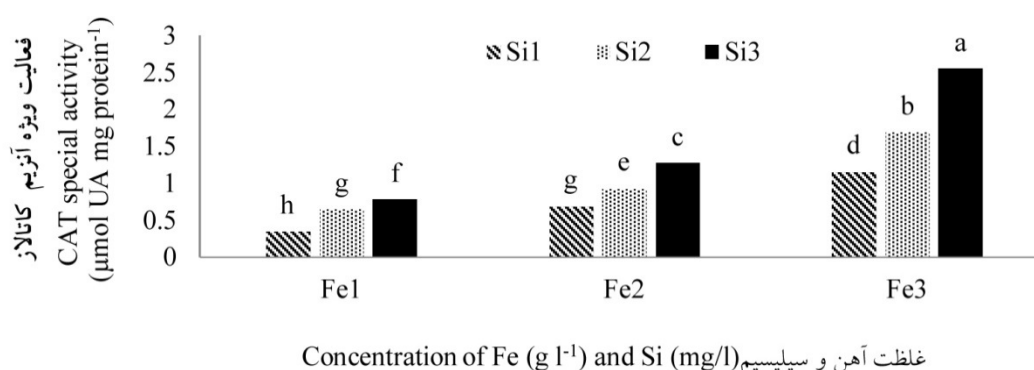


شکل ۷- اثر سطوح مختلف آهن و سیلیسیم بر فعالیت ویژه آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ. Fe1 (0.05)، Fe2 (0.1)، Fe3 (0.3) g l⁻¹، Si1 (0)، Si2 (14) و Si3 (28) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 7. The effect of difference levels of Fe and Si on leaf GPX special activity. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters was has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

سیلیسیم باعث افزایش فعالیت ویژه CAT شده است (شکل ۸). در نتیجه می‌توان نتیجه گرفت سیلیسیم با افزایش فعالیت ویژه CAT تحمل نخودفرنگی را نسبت به سمیت آهن افزایش داده است. در بین تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کاتالاز اولین آنزیمی است که کشف و شناسایی شد. که سبب تبدیل H₂O₂ به دو مولکول آب و اکسیژن می‌شود کاتالاز برای تجزیه H₂O₂ در بین آنزیم‌ها منحصر به فرد است به دلیل این‌که نیاز به عامل احیاء ندارد (۳۱). بر روی گیاه سوبا نشان داد که افزایش غلظت سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شده است که در پژوهش حاضر نیز این نتیجه حاصل گردید (۳۰). سیلیسیم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتیو مانند کاتالاز و پراکسیداز باعث کاهش غلظت H₂O₂ و مالون‌دی‌آلدئید می‌شود (۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در اثر کاربرد سیلیسیم تحت تنش خشکی در گیاه اسفناج (۱۳) گزارش شده است. حضور سیلیسیم تحت شرایط سمیت آهن در گیاه برنج موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (۱۸).

فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (CAT): مقایسه میانگین‌ها (شکل ۸) نشان داد که با افزایش غلظت کلات آهن در محلول غذایی میانگین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز از ۰/۳۵ تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم به ۰/۶۹ و ۱/۱۶ میکرومول واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین به ترتیب در تیمارهای ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر آهن بدون سیلیسیم با اختلاف معنی‌داری افزایش یافت. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش کاربرد سیلیسیم در محلول غذایی فعالیت ویژه آنزیم CAT از ۰/۳۵ در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم به ۰/۶۵ و ۰/۷۸ میکرومول واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین به ترتیب در تیمارهای ۱۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم بدون استفاده از آهن افزایش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش بیش‌ترین غلظت فعالیت ویژه CAT، مربوط به بیش‌ترین سطح آهن و سیلیسیم (۰/۳ گرم بر لیتر کلات آهن و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم) و کم‌ترین غلظت آنزیم کاتالاز مربوط به کم‌ترین سطح آهن و سیلیسیم (۰/۰۵ گرم بر لیتر کلات آهن و صفر میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم) بود که نشان می‌دهد اثر متقابل آهن و



شکل ۸- اثر متقابل آهن و سیلیسیم بر فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

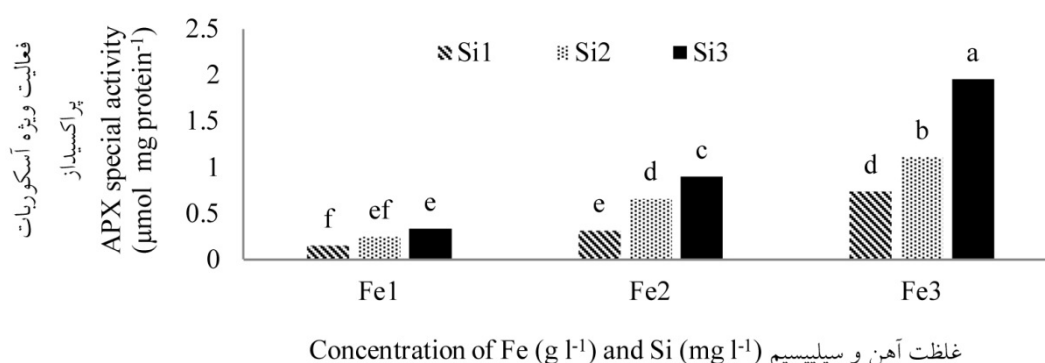
Fig. 8. Interaction of Fe and Si on CAT special activity. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg/l. The means with different letters was has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

در محلول غذایی فعالیت ویژه APX در تمامی تیمارها افزایش پیدا کرد. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش بیش‌ترین فعالیت ویژه APX، مربوط به تیمار ۰/۳ گرم بر لیتر کلات آهن و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم و کم‌ترین فعالیت ویژه APX مربوط به تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر کلات آهن و صفر میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم بود. پراکسیدازها و در بین آن‌ها آسکوربات پراکسیداز، پروتئین‌هایی دارای گروه پروستیتیک می‌باشند که اتم آهن نقش مهمی در جایگاه فعال آن‌ها ایفا می‌کند این آنزیم میل ترکیبی بالایی با آسکوربات (به‌عنوان دهنده الکترون) نشان می‌دهد و این ترکیب به‌عنوان سوپرسترا در احیای پراکسید هیدروژن توسط آسکوربات مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۵). آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش سبب پاکسازی مقرون به صرفه H₂O₂ می‌شود. بسیاری از پژوهشگران گزارش کردند که APX در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی، شوری، سرما، سمیت فلزات و اشعه فرابنفش افزایش می‌یابد (۳۲). طبق پژوهش‌هایی که روی گیاه نخودفرنگی تحت تنش ناشی از سمیت کادمیم انجام دادند به این نتیجه رسیدند که سیلیسیم باعث افزایش

فعالیت ویژه آسکوربات پراکسیداز (APX): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف آهن و سیلیسیم تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها (شکل ۹) نشان داد که با افزایش غلظت کلات آهن در محلول غذایی میانگین فعالیت ویژه APX از ۰/۱۵۰ میکرومول واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم به ۰/۳۱۷ و ۰/۷۴۰ به‌ترتیب در تیمارهای ۰/۱ و ۰/۳ گرم بر لیتر آهن بدون سیلیسیم افزایش یافت که اختلاف بین هر سه تیمار معنی‌دار بود. هم‌چنین مشاهده گردید که با افزایش کاربرد سیلیسیم در محلول غذایی میانگین فعالیت ویژه APX از ۰/۱۵۰ میکرومول واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم به ۰/۲۴۷ و ۰/۳۳۰ به‌ترتیب در تیمارهای ۱۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم بدون استفاده از آهن افزایش یافت که البته فقط اختلاف بین تیمار ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن بدون کاربرد سیلیسیم و ۰/۰۵ گرم بر لیتر آهن و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم معنی‌دار بود. با افزایش سیلیسیم همراه با افزایش آهن

تا حدودی اثرات مخرب این نوع تنش را کاهش داده است. پس می‌توان از سیلیسیم به‌عنوان یک عنصر مفید در کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی مورد مطالعه و استفاده قرار بگیرد. بر اساس این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت آهن با غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر و سیلیسیم با غلظت ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر بهترین اثر را در بهبود برخی ویژگی‌های زیست-شیمیایی نخودفرنگی داشته است.

قابل‌توجهی در فعالیت آنزیم‌های APX، SOD و GPX در شرایط تنش شد (۱۵). سیلیسیم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را افزایش داده و باعث کاهش خسارت ناشی از تنش‌های محیطی و سمیت فلزات سنگین می‌شود (۱۸). می‌توان به‌طور کلی نتیجه‌گیری کرد که غلظت‌های بالای آهن در گیاه نخودفرنگی، هم‌چون بیش‌تر گیاهان باعث افزایش تنش اکسیداتیو شده و سیلیسیم



شکل ۹- اثر متقابل آهن و سیلیسیم بر فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ. Fe1 (۰/۰۵)، Fe2 (۰/۱)، Fe3 (۰/۳)، Si1 (۰)، Si2 (۱۴) و Si3 (۲۸) میلی‌گرم بر لیتر. میانگین‌های دارای حروف متفاوت با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 9. Interaction of Fe and Si on APX special activity. Fe (0.05), Fe2 (0.1), Fe3 (0.3) g l⁻¹, Si1 (0), Si2 (14) and Si3 (28) mg l⁻¹. The means with different letters was has significantly difference at 0.05 probability level by Duncan's test.

منابع

1. Aebi, S.H. 1984. catalas in Vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.
2. Agarie, S., Hanaoka, N., Ueno, O., Miyazaki, A., Kubota, F., Agata, W. and Kaufman, P.B. 1998. Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), monitored by electrolyte leakage. Plant Prod. Sci. 1: 96-103.
3. 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. J. Plant Nutr. 27: 2101-2115.
4. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast, polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
5. Becker, M. and Asch, F. 2005. Iron toxicity in rice-condition and management concepts. J. Soil Sci. Plant Nutr. 168: 558-573.
6. Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. Curr. Sci. 89: 1113-1121.
7. Blakrishman, K. 2000. Peroxidase Activity as an Indicator of the Iron Deficiency Banana. Indian J. Plant Physiol. 5: 389-391.

8. Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Ann. Bot.* 91: 179-194.
9. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
10. Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymol.* 2: 764-775.
11. Choudhary, M., Jetley, U.K., Khan, M.A., Zutshi, S. and Fatma, T. 2007. Effect of heavy metal stress on proline malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66: 2. 204-209.
12. Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S. and Zhang, C. 2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Sci.* 169: 2. 313-321.
13. Gunes, A., Inal, A., Bagci, E.G., Coban, S. and Pilbeam, D.J. 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.
14. Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.
15. Jan, S., Alyemeni, M.N., Wijaya, L., Alam, P., Siddique, K.H. and Ahmad, P. 2018. Interactive effect of 24-epibrassinolide and silicon alleviates cadmium stress via the modulation of antioxidant defense and glyoxalase systems and macronutrient content in *Pisum sativum* L. seedlings. *BMC Plant Biol.* 18: 1. 146.
16. Kampfenkel, K. and Montagu, V. 1995. Effects of iron excess on *Nicotiana glauca* plants (implications to oxidative stress). *Plant Physiol.* 107: 725-735.
17. Khodarahmi, S., Khoshgoftarmanesh, A. and Mobli, M. 2012. Effect of silicon nutrition on alleviating cadmium toxicity-induced damage on cucumber (*Cucumis sativus* L.) at vegetative stage. *ejgcst.* 3: 3. 103-110. (In Persian)
18. Kiani Chalmardi, Z. and Abdolzadeh, A. 2013. Role of silicon in alleviation of iron deficiency and toxicity in hydroponically-grown rice (*Oryza sativa* L.) plants. *ejgcst.* 3: 4. 79-89. (In Persian)
19. Liang, Y.C. 1999. Effects of silicon on enzyme activity and sodium potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Plant Soil.* 29: 217-224.
20. Liang, Y.C., Wong, J.W.C. and Long, W. 2005. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. *Chemosphere.* 58: 475-483.
21. Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y.G. and Christie, P. 2007. Mechanisms of silicon mediated alleviation of a biotic stresses in higher plants: A review. *Environ. Pollut.* 147: 422-428.
22. Majerus, V., Bertin, P. and Lutts, S. 2007. Effects of iron toxicity on osmotic potential, osmolytes and polyamines concentrations in the African rice (*Oryza glaberrima* Steud). *Plant Sci.* 173: 96-105.
23. Mehraban, P. and Abdolazadeh, A. 2012. Effects of iron excess on the antioxidant activity and patterns of protein electrophoresis in *Oryza sativa* var. Shafagh. *J. Plant Prod.* 19: 1. 85-106.
24. Mittle, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 7: 405-415.
25. Moussa, H.R. 2006. Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *Int. J. Agric. Biol.* 8: 3. 293-297.
26. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in Spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.

27. Nenova, V. 2006. Effect of iron supply on growth and photosystem II efficiency of pea plants. *Gen. Appl. Plant Physiol. (Special issue)*, 32: 81-90.
28. Neocleous, D. and Vasilakakis, M. 2007. Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Sci. Hort.* 112: 3. 282-289.
29. Peña-Olmos, J.E. and Casierra-Posada, F. 2013. The photochemical efficiency of photosystem II (PSII) in broccoli plants (*Brassica oleracea* var. Italica) affected by excess of iron. *Orinoquia*. 17: 1. 15-22.
30. Pooladvand, S., Ghorbanli, M. and Farzami, S. 2012. Effect of various levels of iron on morphological, biochemical and physiological properties of *Glycine max* var. Pershing. *IJPP*. 2: 4. 531-538.
31. Shah, K., Kumar, R.G., Verma, R.S. and Dubey, R.S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* 161: 1135-1144.
32. Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* Pp: 1-26.
33. Shi, Q.H. and Wang, X.F. 2009. Effects of exogenous silicon on photosynthetic capacity and antioxidant enzyme activities in chloroplast of cucumber seedling under excess manganese. *Agr. Sci. China*. 8: 1. 40-50.
34. Tale Ahmad, S. and Haddad, R. 2010. Effect of Silicon on Antioxidant Enzymes Activities and Osmotic Adjustment Contents in Two Bread Wheat Genotypes under Drought Stress Conditions. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 26: 2. 207-225. (In Persian)
35. Thirupathi, K., Jun-Cheol, M., Changsoo, K., Kumariah, M. and Wook, K. 2011. Reactive oxygen species in plant their generation. Signal transduction and scavenging mechanisms. *Aust. J. Crop Sci.* 5: 6. 709-725.
36. Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and som antioxidant system in acid rain treated bean plant. Protective role of exogenous Polyamines. *Plant Sci.* 151: 59-66.
37. Yeritsyan, N. and Economakis, C. 2002. Effect of nutrient solution's iron concentration on growth and essential oil content of oregano plants growth in solution culture. *Acta Hort.* 576: 277-283.
38. Zhu, Z.G., Wei, G.Q., Li, J., Qian, Q.Q. and Yu, J.Q. 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidants enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Sci.* 167: 527-533.

