

## بررسی اثر تغذیه سیلیکون در تخفیف کمبود آهن در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) با تأکید بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

زهرا کیانی چلمردی، احمد عبدل‌زاده\* و حمیدرضا صادقی‌پور  
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

### چکیده

آهن، یکی از عناصر ضروری برای همه گیاهان است که کمبود آن باعث کاهش قابل توجه رشد گیاه می‌شود. سیلیکون در گیاهان تک‌لپه از جمله برنج به عنوان عنصری ضروری است که ممکن است در کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان مؤثر باشد. در این تحقیق، برهم کنش تغذیه آهن و سیلیکون در گیاه برنج رقم طارم بررسی شد. گیاهان در گلخانه تحت تیمارهای صفر، ۲ و ۱۰ میلی گرم آهن در لیتر به صورت Fe-EDTA و سیلیکون در دو سطح صفر و ۱/۵ میلی مولار به صورت سیلیکات سدیم کاشته شدند. آزمایش پس از سه هفته تیماردهی خاتمه یافت و گیاهان برای بررسی رشد و تجزیه بیوشیمیایی برداشت شدند. کمبود آهن به کاهش وزن تر، میزان کلروفیل، کاروتنوئیدها و میزان آهن بخش هوایی گیاه منجر شد. همچنین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز محلول و دیواره‌ای، پلی فنل اکسیداز در بخش هوایی، آسکوربات پراکسیداز در ریشه و بخش هوایی در شرایط کمبود آهن کاهش و میزان پراکسید هیدروژن در ریشه و پراکسیداسیون لیپید در بخش هوایی در همین شرایط افزایش یافت؛ در حالی که تغذیه سیلیکون به افزایش وزن تر گیاه، میزان کلروفیل، کاروتنوئید و میزان آهن گیاه منجر شد. اثر تغذیه بهینه آهن و کاربرد سیلیکون در رشد گیاه افزایشی بود. تغذیه سیلیکون فعالیت گایاکول پراکسیداز محلول و دیواره‌ای ریشه و بخش هوایی و کاتالاز بخش هوایی را افزایش داد. بنابراین، با کاربرد سیلیکون میزان پراکسید هیدروژن ریشه و پراکسیداسیون لیپیدی بخش هوایی کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که تغذیه سیلیکون می‌تواند آثار زیان‌بار کمبود آهن را در گیاه برنج در مرحله رشد رویشی کاهش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، برنج، تغذیه سیلیکون، کمبود آهن

### مقدمه

درصد تخمین زده می‌شود (Lindsay, 1979). آهن در

همه موجودات زنده به عنوان کوفاکتوری مهم در

مسیرهای متابولیکی زیستی نقشی تعیین کننده دارد

آهن یکی از عناصر ضروری برای همه گیاهان عالی

است که مقدار آن در خاک‌ها به طور متوسط ۳/۸

فتوستنتزی اختلال ایجاد کنند. گیاهان برای پالایش ROS دارای مکانیسم آنزیمی شامل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون ردوکتاز و غیر آنزیمی شامل گلوکاتایون، آسکوربات و کاروتنوئیدها هستند (Tiryakioglu *et al.*, 2006).  
 پراکسیداسیون لیپید در گیاه را افزایش می‌دهد (Tewari *et al.*, 2007; Miao *et al.*, 2010).  
 تخفیف تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر عوامل تنش‌زای مختلف با تغذیه سیلیکون را گزارش کرده‌اند.  
 سیلیکون به عنوان دومین عنصر ساختمانی پس از اکسیژن در پوسته زمین و خاک است (Richmond and Sussman, 2003) که در گیاهان به عنوان عنصری غیر متحرک بوده، ضروری تلقی نمی‌شود ولی بسیاری از گیاهان عالی از جمله برنج برای رشد و نمو طبیعی خود به سیلیکون نیاز دارند (Richmond and Currie and Perry, 2004; Ma, 2004; Sussman, 2003).  
 میزان سیلیکون در خاک کمتر از ۱ تا ۴۵ درصد وزن خشک خاک است، با این وجود، تنها ۰/۱-۰/۶ میلی‌مولار آن به صورت محلول است (Sommer *et al.*, 2006)، که به شکل سیلیسیک اسید  $\text{Si(OH)}_4$  (یا شکل یونیزه شده  $\text{Si(OH)}_3\text{O}^-$  در اسیدیته بیشتر از ۹) توسط گیاهان قابل جذب است. میزان آن در گیاهان از ۰/۱ تا ۱۰ درصد از وزن خشک گیاه را شامل می‌شود که تقریباً برابر با عناصر پرمصرف است (Hodson *et al.*, 2005).  
 تأثیر مفید سیلیکون در گیاهان بیشتر به افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی مربوط است (Ma and Yamaji, 2006; Liang *et al.*, 2007).

(Audebert, 2006). این عنصر، در ترکیب ساختمانی مولکول‌های دارای هم مانند: پورفیرین، سیتوکروم و مولکول‌های فاقد هم مانند: فرودوکسین و پروتئین‌های آهن-گوگرد وجود دارد که در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا تنفسی و فتوستنتز نقش دارند.  
 همچنین، آهن در سیستم‌های آنزیمی، سیتوکروم اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، اکونیتاز، غیراشباع کردن اسیدهای چرب، سنتز کلروفیل و ... شرکت می‌کند.  
 نقش اصلی آهن زمانی خودش را بهتر نشان می‌دهد که کمبود آن باعث زردی برگ‌های جوان می‌شود. کمبود آهن در مرکبات و غلات مشکل عمده تغذیه گیاه در خاک‌های آهکی محسوب می‌شود (Perez-Sanz *et al.*, 2002).  
 علایم کمبود آهن ابتدا در جوان‌ترین برگ‌ها به صورت زردی بین رگبرگی و سرانجام در پهنک برگ به رنگ زرد و حتی سفید بروز می‌کند (Marschner, 1995). این نشانه‌ها معمولاً می‌توانند در مراحل مختلف رشد مانند جوانه‌زنی، رشد رویشی و مرحله زایشی در برنج بروز کنند (Sahrawat, 2004; Becker and Asch, 2005).  
 کمبود آهن با کاهش کلروفیل و آسیب به واکنش‌های اکسیداسیون و احیا به فتوستنتز آسیب می‌زند. علاوه بر این، یکی از مکانیسم‌های اصلی کاهش رشد در کمبود آهن تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که شامل رادیکال‌های سوپراکسید ( $\text{O}_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) و هیدروکسیل (OH) است (Laspina *et al.*, 2005).  
 افزایش میزان پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کمبود پتاسیم در گیاه سویا (Miao *et al.*, 2010) گزارش شده است. رادیکال‌های آزاد می‌توانند کلروفیل را اکسید و در انتقال الکترون

(2005). با توجه به اهمیت روز افزون برنج به عنوان ماده غذایی ارزشمند در جیره غذایی انسان، تحقیق در مورد کمبود آهن که در مزارع برنج باعث کاهش عملکرد محصول می‌شود، اهمیت زیادی دارد. تغذیه سیلیکون ممکن است در کاهش آسیب‌های کمبود آهن در گیاه برنج مؤثر باشد. بنابراین، در این پژوهش گیاه برنج در شرایط کمبود آهن در فقدان و حضور سیلیکون کاشته، عواملی مانند میزان کلروفیل، کاروتنوئیدها، پراکسیداسیون لیپید، پراکسید هیدروژن و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ارزیابی شد تا درک بهتری از راه‌های آسیب و مسیرهای احتمالی افزایش تحمل به کمبود آهن با تغذیه سیلیکون فراهم شود.

### مواد و روش‌ها کشت گیاهان

بذرهای گیاه برنج رقم طارم (*O. sativa* L.) از مرکز تحقیقات برنج آمل تهیه و با استفاده از الکل و هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شد. بذرها برای جوانه‌زنی در داخل حوله کاغذی مرطوب در اتاقک کشت قرار گرفتند. پس از گذشت ۴ روز بذرها جوانه زده، به گلدان‌های حاوی شن غربال و کاملاً شسته شده منتقل شدند. هر ۴ گلدان در یک تشتک قرار داده و با ۸ لیتر محلول غذایی غرقاب شدند. سطح و کف گلدان‌ها با فواصل ۲ سانتی‌متری سوراخ شد تا تبادل محلول غذایی بین تشت و گلدان تسهیل شود. محلول مورد استفاده برای کشت، یوشیدا (Yoshida *et al.*, 1976) بود که بر اساس تیمارهای آهن و سیلیکون تعدیل شد. طرح آزمایش بلوک‌های کامل تصادفی و در قالب فاکتوریل بود. عامل آهن در سه سطح صفر، ۲ و ۱۰ (شاهد)

طریق ایجاد کمپلکس و مهار انتقال فلزات سنگین از ریشه به بخش هوایی، بخش‌بندی یون‌های فلزی در درون گیاه و تحریک سیستم آنتی‌اکسیدان در گیاهان، سمیت برخی از فلزات سنگین را در گیاهان کاهش می‌دهد (Neumann and Zur Nieden, 2001; Gong *et al.*, 2005; Shi *et al.*, 2005a, 2005b). اثر تخفیفی سیلیکون در گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی اغلب با تغییر فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو همراه است، هرچند مکانیسم‌های درگیر در این عمل چندان شناخته شده نیست (Liang *et al.*, 2007; Miao *et al.*, 2010). سیلیکون با تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در افزایش تحمل شوری (Zhu *et al.*, 2004; Al-Aghabary *et al.*, 2005)، خشکی (Gong *et al.*, 2005)، سمیت منگنز (Shi *et al.*, 2005b) و سمیت بور (Gunes *et al.*, 2007) و سمیت کادمیوم (Vaculik *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2010) ایفا می‌کند، تاکنون پژوهش‌چندانی در ارتباط با نقش تغذیه سیلیکون در کمبود عناصر ضروری از جمله آهن صورت نگرفته است و تنها نقش مفید این عنصر در کمبود پتاسیم در گیاه سویا گزارش شده است (Miao *et al.*, 2010).

برنج (*Oryza sativa* L.) از مهم‌ترین محصولات زراعی در جهان است که غذای اصلی ۴۰ درصد جمعیت دنیا را تشکیل می‌دهد. این محصول دو سوم کالری مورد نیاز برای حدود دو میلیارد نفر را در آسیا تأمین می‌کند و منبع اصلی پروتئین برای این جمعیت است. با توجه به اینکه برنج گیاه انباشته‌کننده سیلیکون محسوب می‌شود، به عنوان گیاه مدل در جذب و انتقال و تغذیه سیلیکون استفاده می‌شود (Mitani and Ma,

توسط بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۵ حاوی هیدروکسیل آمین ۱ میلی‌مولار در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد. اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن با استفاده از معرف کلرید تیتانیوم (کلرید تیتانیوم ۰/۱ درصد (حجم/حجم) حل شده در سولفوریک اسید ۲۰ درصد)، در طول موج ۴۱۰ نانومتر انجام شد. ضریب خاموشی برای محاسبه مقدار کمپلکس تیتانیوم-پراکسید هیدروژن  $0.28 / \mu\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  است. برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد.

#### فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز محلول و دیواره‌ای، پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز

عصاره آنزیمی لازم برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز محلول و دیواره‌ای و پلی فنل اکسیداز با استفاده از بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ از بافت تر گیاهان استخراج شد (Liu and Huang, 2000). فعالیت آنزیم‌ها از روش اسپکتروفتومتری و با دستگاه (Shimidzo UV-160) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز با استفاده از روش Kar and Mishra (۱۹۷۶) انجام شد. فعالیت این آنزیم در مد سینتیک و در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن عصاره به محیط واکنش تجزیه  $\text{H}_2\text{O}_2$  توسط آنزیم شروع می‌شود. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول و دیواره‌ای، مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۴۰ میلی‌مولار و ۱۰

میلی‌گرم در لیتر به صورت Fe-EDTA و عامل سیلیکون در دو سطح صفر و ۱/۵ میلی‌مولار به صورت  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  به گیاه داده شد. تیماردهی از هفته دوم کشت شروع شد. اسیدیته محلول غذایی تشتک‌ها به صورت روزانه بین ۵/۵ تا ۶ تنظیم شد و در پایان هر هفته، محلول درون تشتک‌ها تعویض شد. در طول دوره آزمایش بیشینه و کمینه دمای روز و شب به ترتیب ۳۲ و ۱۹ درجه سانتیگراد و میانگین رطوبت نسبی ۷۴ درصد بود. گیاهان پس از سه هفته تیماردهی برای بررسی رشد و تجزیه بیوشیمیایی برداشت شدند.

#### عناصر سیلیکون و آهن

غلظت آهن با دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu AA 7000 پس از استخراج بافت‌های گیاهی با نیتریک اسید و پرکلریک اسید تعیین شد. استخراج یون سیلیسیوم با روش Elliot و Synder (۱۹۹۱) و اندازه‌گیری با روش رنگ‌سنجی Narayanaswamy و Prakash (۲۰۰۹) انجام شد.

#### اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید، پراکسید هیدروژن، کلروفیل و کاروتنوئید

اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید با روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. عصاره گیاهان توسط ۲ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد استخراج شد. برای اندازه‌گیری از معرف تیوباربتوریک اسید/تری کلرو استیک اسید (TBA/TCA) شامل TBA ۰/۲۵ درصد در TCA ۱۰ درصد در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد استفاده شد. جذب محلول به دست آمده به روش فتومتریک و در سه طول موج ۵۳۲، ۴۴۰ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. عمل استخراج پراکسید هیدروژن بر طبق روش Chen و همکاران (۲۰۰۰)

نداشت. تفاوت معنی‌داری در تعداد برگ بین تیمارهای صفر، ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده نشد، با این وجود، کاهش معنی‌دار تعداد پنجه در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده شد. حضور سیلیکون در تمام تیمارها به افزایش تعداد پنجه و برگ نسبت به گیاه فاقد سیلیکون منجر شد (شکل ۱).

### میزان عناصر سیلیکون و آهن

تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای صفر، ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن در میزان سیلیکون ریشه و بخش هوایی گیاه مشاهده نشد، با این حال، حضور سیلیکون باعث افزایش معنی‌دار میزان سیلیکون در تمام تیمارهای آهن بخش هوایی گیاه نسبت به گیاه فاقد سیلیکون شد (شکل ۲-الف و ب).

کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن به کاهش میزان آهن در ریشه و بخش هوایی گیاه نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن منجر شد. این کاهش در بخش هوایی مشهودتر بود. حضور سیلیکون تنها در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن باعث افزایش معنی‌دار میزان آهن در ریشه و بخش هوایی گیاه نسبت به گیاهان رشد یافته در محیط فاقد سیلیکون شد (شکل ۲-پ و ت).

کمبود آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب باعث افزایش میزان پراکسید هیدروژن در ریشه و بخش هوایی شد. حضور سیلیکون در تیمارهای ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن باعث کاهش و در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر آهن باعث افزایش میزان پراکسید هیدروژن ریشه و بخش هوایی گیاه شد (شکل ۳-الف و ب).

میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت این آنزیم در مد سینتیک و در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده شد (Resende et al., 2002). استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از بافر فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ از روش Asada و Nakano (۱۹۸۱) بود. ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز شامل بافر فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات ۰/۵ مولار و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ۱/۲ میلی‌مولار بود. عمل اندازه‌گیری در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام شد.

### تحلیل آماری

محاسبه داده‌ها و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel و Sas انجام شد. همه داده‌ها با تجزیه واریانس یک‌عاملی و دو عاملی تجزیه شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

### نتایج

#### رشد

در غیاب سیلیکون، بیشترین میزان وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن و کمترین میزان آن در تیمار صفر مشاهده شد. کاهش میزان آهن از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به ۲ و صفر میلی‌گرم در لیتر به کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه و بخش هوایی گیاه منجر شد. کاربرد سیلیکون در تیمارهای ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن به افزایش وزن تر ریشه و بخش هوایی نسبت به گیاه فاقد سیلیکون منجر شد، در حالی که حضور آن در تیمار صفر تأثیر معنی‌داری بر وزن تر

حضور سیلیکون در ریشه تأثیر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم نشان نداد، با این حال، در بخش هوایی به افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن منجر شد (شکل ۵-الف و ب).

کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز محلول و دیواره‌ای با کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده شد. حضور سیلیکون در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن ریشه و در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر آهن بخش هوایی به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز دیواره‌ای نسبت به گیاه فاقد سیلیکون منجر شد، ولی فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول در همه تیمارها در ریشه و بخش هوایی در حضور سیلیکون افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۵-پ تا ج).

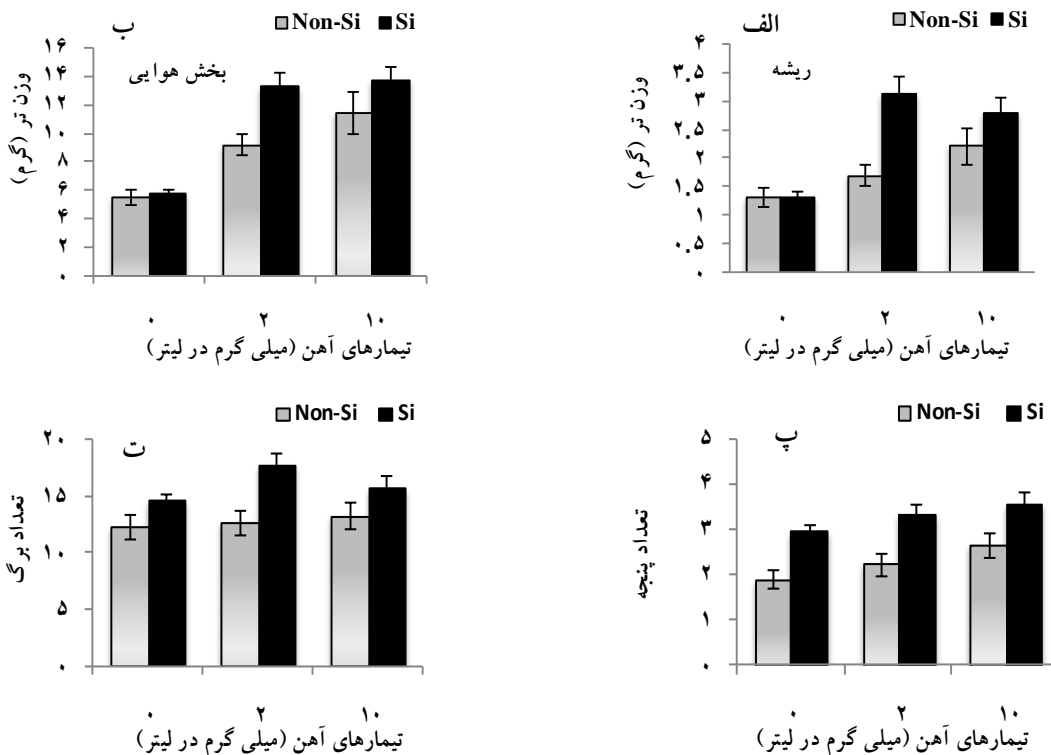
کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر به کاهش معنی‌داری در میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر منجر شد. حضور سیلیکون در تیمارهای ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن به افزایش و در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر آهن به تشدید کاهش کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید منجر شد (شکل ۶). نسبت کلروفیل a/b در فقدان آهن زیاد بود، در حالی که این نسبت در تیمارهای ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن افزایش یافت. سیلیکون تنها در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن کاهش این نسبت را باعث شد.

کمبود آهن در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر به افزایش پراکسیداسیون لیپید ریشه نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن منجر شد. حضور سیلیکون در تمام تیمارها میزان پراکسیداسیون لیپید ریشه و بخش هوایی را به مقدار درخور توجهی کاهش داد (شکل ۳-پ و ت).

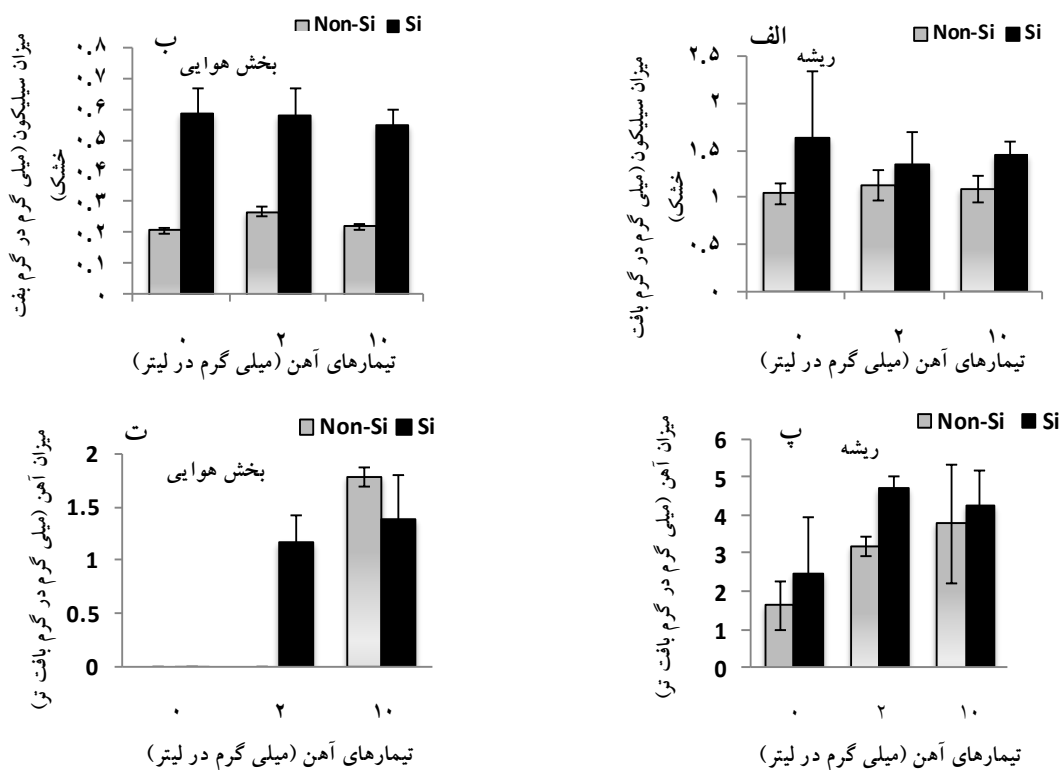
با کاهش میزان آهن در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه و بخش هوایی کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن نشان داد. حضور سیلیکون به کاهش فعالیت این آنزیم در تیمار یاد شده منجر شد، با این حال، در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن فعالیت این آنزیم را در بخش هوایی افزایش داد (شکل ۴-الف و ب).

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز با کاهش میزان آهن در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر آهن ریشه و بخش هوایی و تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن بخش هوایی کاهش معنی‌داری را نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن نشان داد. حضور سیلیکون در تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر آهن ریشه باعث افزایش و در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن ریشه باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد (شکل ۴-پ و ت).

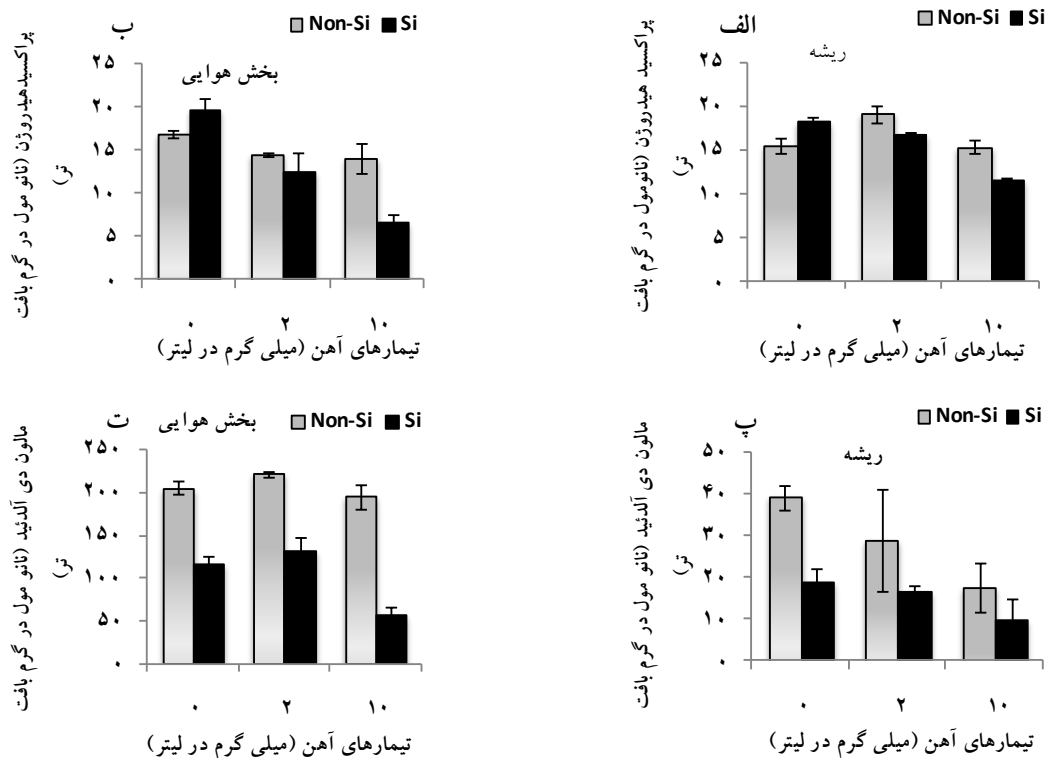
فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی، با کاهش میزان آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن نسبت به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن کاهش یافت، در حالی که در ریشه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای صفر، ۲ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده نشد.



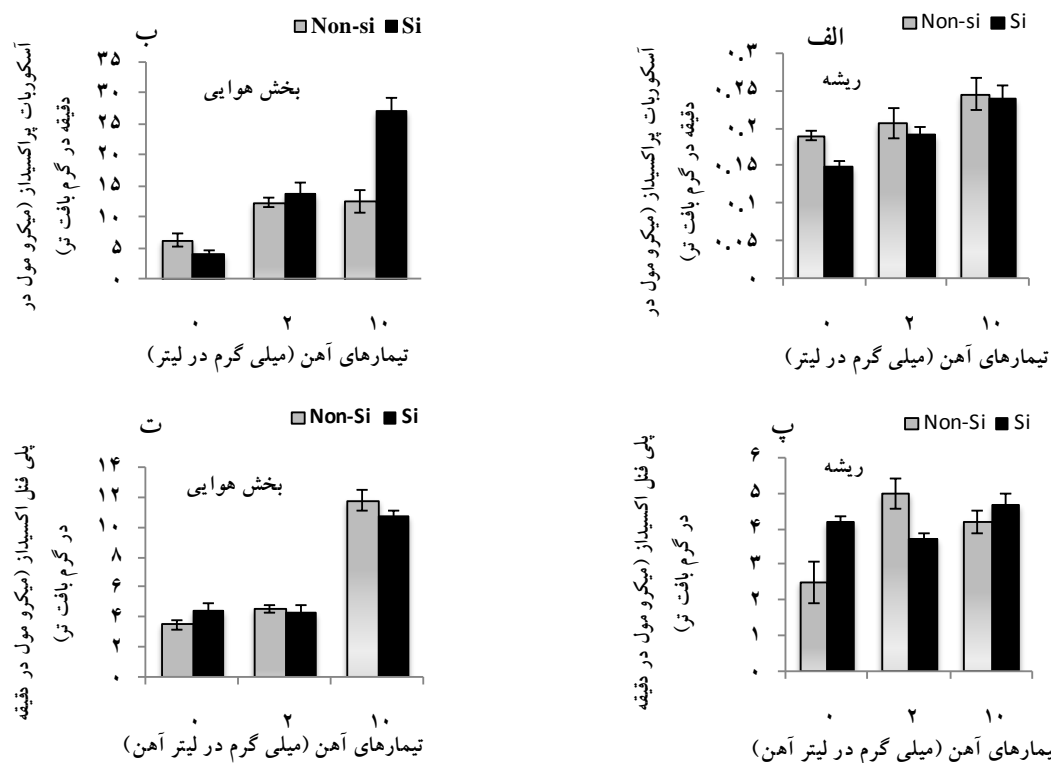
شکل ۱- مقایسه تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر صفات رشد الف و ب) (وزن تر؛ پ) تعداد برگ؛ ت) تعداد پنجه.



شکل ۲- مقایسه تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر الف و ب) (میزان سیلیکون؛ پ و ت) میزان آهن.

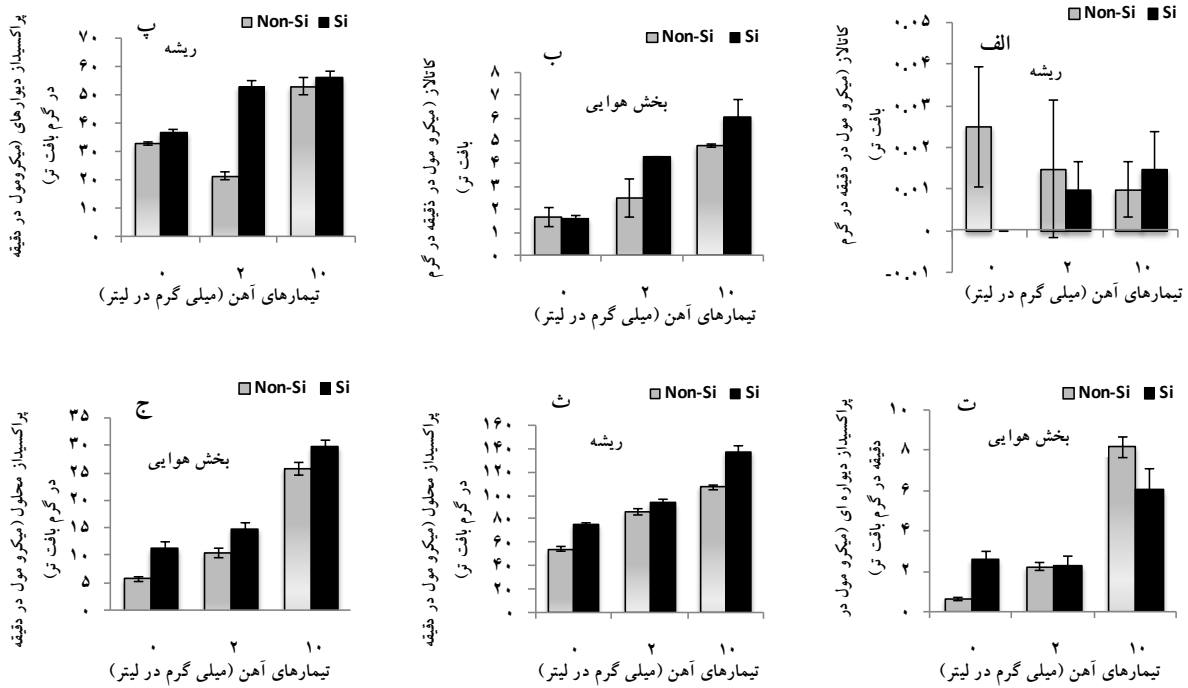


شکل ۳- مقایسه تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر الف و ب) میزان پراکسید هیدروژن؛ پ و ت) میزان مالون‌دی‌آلدئید.

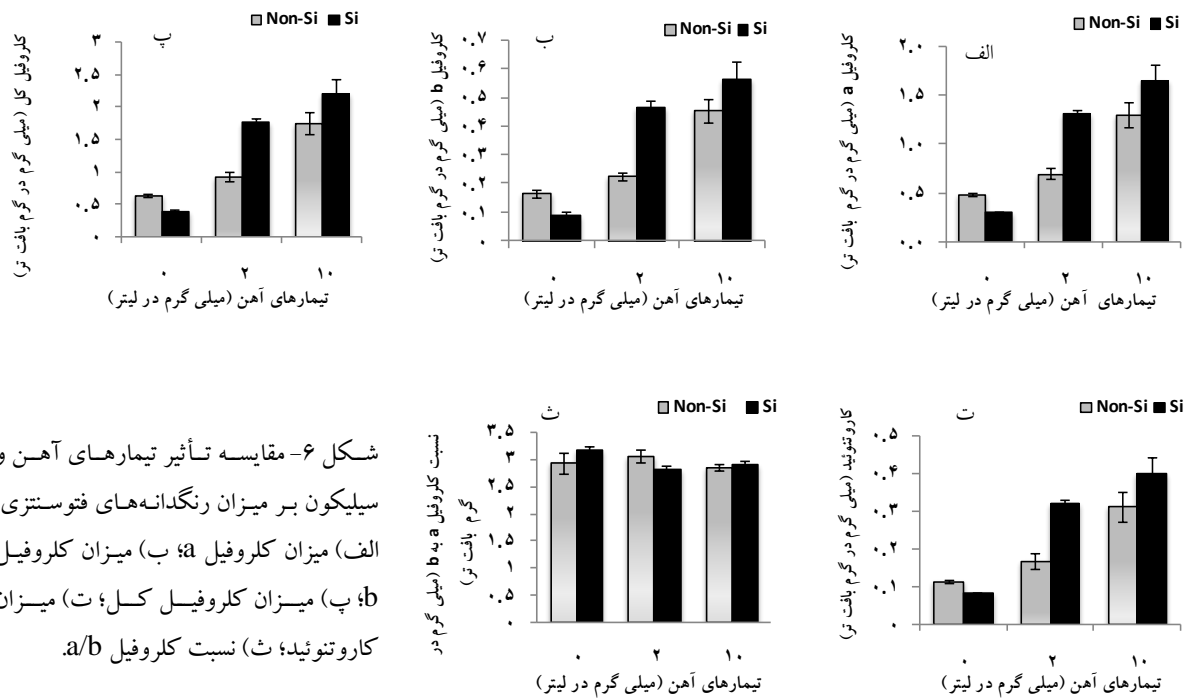


شکل ۴- مقایسه تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر الف و ب) فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز؛ پ و ت) فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز.





شکل ۵- مقایسه تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان. الف و ب) فعالیت آنزیم کاتالاز؛ پ و ت) فعالیت آنزیم پراکسیداز دیواره‌ای؛ ج و د) فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول. (منبع: [10])



شکل ۶- مقایسه تأثیر تیمارهای آهن و سیلیکون بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی. الف) میزان کلروفیل a؛ ب) میزان کلروفیل b؛ ج) میزان کلروفیل کل؛ د) نسبت کلروفیل a/b؛ هـ) نسبت کلروفیل a/b؛ و) نسبت کلروفیل a/b.

## بحث

نتایج حاصل از اندازه‌گیری صفات رشد در دوره رویشی نشان داد که کمبود آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، تعداد پنجه و تعداد برگ گیاه برنج می‌شود. بیشترین وزن و رشد بهینه در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر آهن مشاهده شد (شکل ۱).

کمبود آهن در تیمارهای صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن به کاهش میزان آهن در ریشه و بخش هوایی گیاه منجر شد (شکل ۲-پ و ت). در نتیجه کمبود آهن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید شد. گیاهان از مکانیسم آنزیمی و غیر آنزیمی برای حذف انواع اکسیژن فعال استفاده می‌کنند که مکانیسم آنزیمی آنها شامل کاتالاز (CAT)، پراکسیدازها (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و مکانیسم غیر آنزیمی آنها شامل گلوکاتایون، آسکوربات و کاروتنوئید است (Tiryakioğlu *et al.*, 2006). در شرایط طبیعی، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بخش‌های مختلف یاخته‌های گیاهان تولید می‌شوند (Bhattacharjee, 2005). برای مثال، در کلروپلاست، فردوکسین ممکن است به جای  $NADP^+$  الکترون خود را به اکسیژن ملکولی داده، رادیکال آزاد اکسیژن تولید کند و یا پراکسید هیدروژن ممکن است در تنفس نوری با فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ایجاد شود. هر چند در شرایط عادی، سوپراکسید دیسموتاز رادیکال آزاد را از بین می‌برد و کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به سادگی پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کنند، اما در شرایط تنش، مانند کمبود آهن، فرآیند

سم‌زدایی به طور ناقص انجام می‌شود. کمبود آهن با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز به افزایش میزان پراکسید هیدروژن در ریشه گیاه منجر شد (شکل‌های ۳ و ۵). کاهش فعالیت سایر آنزیم‌های سم‌زدان نظیر آنزیم آسکوربات پراکسیداز باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در کمبود آهن شد (شکل ۴). آنزیم آسکوربات پراکسیداز از آنزیم‌های کلروپلاستی است که در تجزیه پراکسید هیدروژن کلروپلاستی شرکت دارد. در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم میزان پراکسید هیدروژن در کلروپلاست افزایش یافت و در نتیجه میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در گیاه کاهش یافت (شکل ۶) که احتمالاً به کاهش میزان فتوسنتز منجر شده است. با توجه با این که آهن در بیوستنز کلروفیل دخالت دارد، کمبود آهن به طور مستقیم نیز به کاهش میزان کلروفیل در گیاه منجر شد. McKeague و Day (۱۹۶۶) نیز دریافتند که ارتباط مثبتی بین میزان کلروفیل و میزان آهن در خاک‌های آهکی وجود دارد. فقدان آهن، افزایش نسبت کلروفیل  $a/b$  را باعث شد که در تنش‌های دیگر نیز گزارش شده است (Ma *et al.*, 1997). کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (شکل ۴) دخیل در بیوستنز لیگنین نیز در نتیجه این تنش مشهود است. این نتایج آشکار می‌سازد که کمبود آهن با کاهش کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ویژه در کلروپلاست، احتمالاً فتوسنتز را کاهش داده، باعث کاهش رشد گیاه شده است.

حضور سیلیکون در فقدان آهن (صفر میلی‌گرم در لیتر آهن) به افزایش میزان پراکسید هیدروژن نسبت به گیاه فاقد سیلیکون منجر شد. کاهش میزان کلروفیل در فقدان آهن و در حضور سیلیکون نسبت به عدم حضور

کاهش دهد (شکل ۳). این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد سیلیکون تنش اکسیداتیو ناشی از کمبود آهن را کاهش داده، از این طریق در بهبود کارکرد غشاهای زیستی مؤثر بوده است. به علاوه، کاربرد سیلیکون در این تیمار، میزان کلروفیل را در گیاه افزایش و نسبت کلروفیل a/b را کاهش داد، که این امر ممکن است به کاهش تنش اکسیداتیو مربوط باشد (شکل ۶). Miao و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که سیلیکون با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش میزان پراکسید هیدروژن باعث بهبود برخی از آثار ناشی از کمبود پتاسیم در گیاه سویا می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که سیلیکون احتمالاً با بهبود جذب آهن از شدت تنش اکسیداتیو و کمبود کلروفیل در گیاه کاسته، بهبود رشد را در شرایط کمبود آهن باعث می‌شود.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که حضور سیلیکون قادر است آثار زیان‌بار کمبود آهن به ویژه القا تنش اکسیداتیو را تخفیف داده، به افزایش رشد گیاه منجر شود، هرچند در فقدان آهن، این عنصر توانایی جایگزین شدن به جای آهن را ندارد و حتی آسیب‌های ناشی از نبود آهن را تشدید می‌کند.

### سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه گلستان و ریاست محترم دانشکده علوم برای فراهم آوردن بودجه پژوهشی سپاسگزاری می‌شود. همچنین، نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات سرکار خانم مقدم برای مساعدت در کارهای آزمایشگاهی تشکر نمایند.

سیلیکون تشدید شد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز محلول و دیواره‌ای و پلی‌فنل اکسیداز در این تیمار آهن در حضور سیلیکون نسبت به فقدان آن افزایش و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و میزان کلروفیل و کاروتنوئید کاهش یافت. در نتیجه، کاهش رشد گیاهان در تیمار صفر میلی‌گرم آهن در لیتر در حضور سیلیکون نسبت به فقدان آن بیشتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که سیلیکون نمی‌تواند آثار فقدان کامل آهن در محیط ریشه را تخفیف دهد.

سیلیکون پس از جذب توسط ریشه به بخش هوایی گیاه انتقال می‌یابد و روی دیواره سلول‌ها به صورت پلی‌م‌هیدراته، سیلیکای بی‌شکل، لایه دوتایی سیلیکا-کوتیکول و لایه دوتایی سیلیکا-سلولز در سطح برگ و ساقه ته‌نشین می‌شود و از شدت تعرق می‌کاهد (Prychid *et al.*, 2004; Ma and Yamaji, 2006). به علاوه، حضور سیلیکون در آندودرم ریشه ممکن است جذب آپوپلاستی آب و برخی یون‌ها را کاهش دهد (Kidd *et al.*, 2001). با این حال، سیلیکون در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن انباشتگی آهن در گیاهان را افزایش داد (شکل ۲). این نتایج نشان می‌دهد که سیلیکون احتمالاً با افزایش فعالیت ATPase‌ها و در نتیجه بهبود عملکرد غشا توانست افزایش غلظت آهن در گیاه را باعث شود و از شدت تنش کمبود آهن بکاهد (Liang, 1999). تیمار سیلیکون با افزایش غلظت آهن در گیاه در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر آهن توانست فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز بخش هوایی (شکل ۵)، گایاکول پراکسیداز دیواره‌ای ریشه و گایاکول پراکسیداز محلول ریشه و بخش هوایی را افزایش و پراکسیداسیون لیپید و پراکسید هیدروژن را

## منابع

- Al-Aghabary, K., Zhu, Z. and Shi, Q. (2005) Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Plant Nutrition* 27: 2101-2115.
- Audebert, A. (2006) Iron partitioning as a mechanism for iron toxicity tolerance in lowland rice. In: *Iron toxicity in rice-based system in West Africa*. (eds. Audebert, A., Narteh, L. T., Kiepe, P., Milar, D. and Beks, B.) 34-46. Cotonous. WARDA [Africa Rice Center] Ibadan Nigeria
- Becker, M. and Asch, F. (2005) Iron toxicity in rice-condition and management concepts. *Jurnal Plant Nutrition Soil Science* 168: 558-573.
- Bhattacharjee, S. (2005) Reactive oxygen species and oxidative stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science* 89: 1113-1121.
- Chen, L. M., Lin, C. C. and Kao, C. H. (2000) Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> level, and cell wall peroxidase activity in roots. *Science* 41: 99-103.
- Currie, H. A. and Perry, C. (2007) Silica in plants: biological, biochemical and chemical Studies. *Annual Botany* 100(7): 1383-1389.
- Elliot, C. L. and Snyder, G. H. (1991) Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in Rice Straw. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 39: 1118-1119.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S. and Zhang, C. (2005) Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science* 169: 313-321.
- 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. *Scientia Horticulture* 113: 113-119.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichimetry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hodson, M. J., White, P. J., Mead, A. and Broadley, M. R. (2005) Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. *Annual Botanny* 96: 1027-1046.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- Kidd, P. S., Llugany, M., Gunse, B. and Barcelo, J. (2001) The role of root exudates in aluminium resistance and silicon induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* 52: 1339-1352.
- Laspina, N. V., Groppa, M. D., Tomaro, M. L. and Benavides, M. P. (2005) Nitric oxide protects sun flower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 169: 323-330.
- Liang, Y. C. (1999) Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Plant and soil* 209: 217-224.
- Liang, Y., Sun, W., Zhu, Y. and Christie, P. (2007) Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants-a review. *Environmental Pollution* 147: 422-428.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic membranes. *Methodes Enzym* 148: 350-382.
- Lindsay, W. L. (1979) *Chemical equilibria in soils*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Liu, X. and Huang, B. (2000) Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping. *Crop Science* 40: 503-510.
- Ma, H. C., Fang, L., Wang, S., Altman, A. and Huttermann, A. (1997) Photosynthetic response of *Populus euphratica* to salt stress. *Forest Ecology and Management* 93: 55-61.

- Ma, J. F. (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science Plant Nutrition* 50: 11-18.
- Ma, J. F. and Yamaji, N. (2006) Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Plant Science* 11: 392-397.
- Marchner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2<sup>nd</sup> Ed, Academic Press, New York.
- McKeague, J. A. and Day, J. H. (1966) Dithionite and oxalate extractable Fe and Al as aids in differentiating various classes of soils. *Soil Science* 46: 13-19.
- Miao, B. H., Han, X. G. and Zhang, W. H. (2010) The ameliorative effect of silicon on soybean seedlings grown in potassium-deficient medium. *Annals of Botany* 105: 967-973.
- Mitani, N. and Ma, J. F. (2005) Uptake system of silicon in different plant species. *Journal of Experimental Botany* 56: 1255-1261.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Narayanaswamy, C. and Prakash, N. B. (2009) Calibration and categorization of plant available silicon in rice soils of South India. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1237-1254.
- Neumann, D. and Zur Nieden, U. (2001) Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. *Phytochemistry* 56: 685-692.
- Perez-Sanz, A., Alvarez-Fernandez, A. A., Casero, T., Legaz, F. and Lucena, J. J. (2002) Fe enriched biosolids as fertilizers for orange and peach trees grown in field conditions. *Plant and Soil* 241: 145-153.
- Prychid, C. J., Rudall, P. J. and Gregory, M. (2004) Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *Botany* 69: 377-440.
- Resende, M. L. V., Nojosa, G. B. A., Cavalcanti, L. S., Aguilar, M. A. G., Silva, L. H. C. P., Perez, J. O., Andrade, G. C. G., Carvalho, G. A. and Castro, R. M. (2002) Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathology* 51: 621-628.
- Richmond, K. E. and Sussman, M. (2003) Got silicon? the non-essential beneficial plant nutrient. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 268-272.
- Sahrawat, K. L. (2004) Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. *Journal of Plant Nutrition* 27: 1471-1504.
- 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 Growth Regulation* 61: 45-52.
- Shi, Q. H., Bao, Z. Y., Zhu, Z. J., He, Y., Qian, Q. Q. and Yu, J. Q. (2005a) Silicon mediated alleviation of Mn toxicity in *Cucumis sativus* in relation to activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. *Phytochemistry* 66: 1551-1559.
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., He, Y., Qian, Q. and Yu, J. (2005b) Silicon-mediated alleviation of Mn toxicity in *Cucumis sativus* in relation to activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. *Phytochemistry* 66: 1551-1559.
- Sommer, M., Kaczorek, D., Kuzyakov, Y. and Breuer, J. (2006) Silicon pools and fluxes in soils and landscapes- a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169: 310-329.
- Tewari, R. K., Kumar, P. and Sharma, P. N. (2007) Oxidative stress and antioxidant responses in young leaves of mulberry plants grown under nitrogen, phosphorus or potassium deficiency. *Journal of Integrative Plant Biology* 49: 313-322.
- Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. and Cakmak, I. (2006) Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 20: 181-189.
- Vaculik, M., Lux, A., Luxova, M., Tanimoto, E.

- and Lichtscheidl, I. (2009) Silicon mitigates cadmium inhibitory effects in young maize plants. *Environmental and Experimental Botany* 67: 52-58.
- Yoshida, S., Forno, D. A., Cock, J. H. and Gomez, K. A. (1976) *Laboratory manual for physical studies of rice*. Los Baños, Laguna.
- 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.

## **Evaluation of the effects of silicon nutrition on alleviation of iron deficiency in rice plants (*Oryza sativa* L.) with emphasis on growth and antioxidant enzymes activity**

**Zahra Kiani Chalmardi, Ahmad Abdolzadeh \* and Hamid Reza Sadeghipour**

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Golestan, Gorgan, Iran

### **Abstract**

Iron is an essential element in all plants and its deficiency causes drastic growth retardation. Silicon is also an essential element in Poaceae family including rice that may reduce biotic and abiotic stresses in plants. In this research, the interactions of silicon and iron nutrition were studied in rice (*Oryza sativa* L. cv. Tarem). The plants cultivated in greenhouse under iron treatments of 0, 2 and 10 mg l<sup>-1</sup> as a Fe-EDTA and silicon treatments of 0 and 1.5 mM as a sodium silicate. The experiment was terminated after 3 weeks of iron treatments and then the plants were harvested for assaying growth and biochemical factors. Iron deficiency resulted in reduction of fresh mass, contents of chlorophyll, carotenoids and iron in shoots. In addition, the activity of catalase, cell wall and soluble guaiacol peroxidase, and polyphenol oxidase in shoots decreased under iron deficiency. As a result, the amount of hydrogen peroxide in roots and lipid peroxidation in shoots increased due to iron deficiency. Silicon nutrition, however, increased the iron content and recovered the fresh mass, chlorophyll and carotenoids contents as well. The effects of silicon application and optimal iron nutrition on plant growth were synergistic. Silicon nutrition caused significant increase in the cell wall and soluble guaiacol peroxidase activity in both roots and shoots and the catalytic activity in shoots. Consequently, the hydrogen peroxide in roots and the lipid peroxidation in shoots decreased following silicon application. The results indicated that silicon application could alleviate the harmful effects of iron deficiency in vegetative growth stage in rice.

**Key words:** Antioxidant enzymes, Rice, Silicon nutrition, Iron deficiency

---

\* Corresponding Author: a.abdolzadeh@gu.ac.ir