

تأثیر سیلیسیم بر برخی پارامترهای آناتومیکی و بیوشیمیایی شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens*) تحت تنش شوری

فاطمه حسونند^۱ - عبدالحسین رضایی نژاد^{۲*} - محمد فیضیان^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۲۲

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر سیلیسیک اسید بر پاسخ‌های گیاه شمعدانی معطر به شوری ناشی از کلرید کلسیم انجام شد. آزمایش به صورت گلدانی، هیدروپونیک درون ماسه و براساس فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد. فاکتورها شامل کاربرد روزانه کلرید کلسیم در سه غلظت ۱/۸ (شاهد)، ۴ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر و کاربرد هفتگی سیلیسیک اسید در سه غلظت صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار در محلول غذایی بود. قلمه‌های ریشه‌دار شده به صورت هیدروپونیک در ماسه کشت شده و بعد از استقرار گیاهان تیمارها به همراه محلول غذایی اعمال شد. نتایج نشان دادند که با افزایش هدایت الکتریکی محلول غذایی تعداد برگ، سطح برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص روزنه‌ای، محتوای نسبی آب و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان دادند و کاربرد سیلیسیک اسید به خصوص غلظت ۱ میلی‌مولار باعث بهبود این شاخص‌ها گردید. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۴ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر کلرید کلسیم موجب افزایش مالون‌دی‌آلدئید شد و کاربرد سیلیسیک اسید ۱ میلی‌مولار به ترتیب موجب کاهش ۲۳/۶ و ۳۵ درصدی این ماده گردید. همچنین غلظت‌های ۴ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر کلرید کلسیم موجب افزایش نشأت الکترولیت‌ها در این گیاه شد و کاربرد سیلیسیک اسید ۱ میلی‌مولار به ترتیب موجب کاهش ۱۶/۷ و ۱۱/۹ درصدی نشأت شد که این نتایج نشان داد که سیلیسیم پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کاهش داده و باعث محافظت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو شد. با افزایش هدایت الکتریکی محلول غذایی میزان پرولین برگ افزایش یافت و سیلیسیک اسید تنها در گیاهان تحت تنش موجب کنترل میزان پرولین گیاه شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که افزایش غلظت کلرید کلسیم باعث ایجاد تنش در شمعدانی معطر شده و کاربرد هفتگی سیلیسیک اسید با غلظت یک میلی‌مولار باعث کاهش اثرات تنش شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، روزنه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کلرید کلسیم

مقدمه

کشاورزی متأثر از کلرید سدیم است اما سایر یون‌ها نظیر Mg^{2+} ، Ca^{2+} و SO_4^{2-} نیز در ایجاد این پدیده مهم دخیل هستند (۸). اصطلاح شوری مربوط به وجود کلیه یون‌های غیر آلی شامل HCO_3^- ، SO_4^{2-} ، K^+ ، Mg^{2+} ، Ca^{2+} ، Na^+ و Cl^- موجود در آب‌های سطحی و زیرزمینی است (۶). علی‌رغم اینکه کلرید کلسیم در غلظت‌های بالاتری نسبت به کلرید سدیم در خاک‌ها و آب‌های زیرزمینی بسیاری مناطق دنیا وجود دارد (۱۹)، بیشتر مطالعات راجع به مقاومت به شوری گونه‌های گیاهی در قالب آزمایش‌هایی انجام می‌شوند که شوری آنها ناشی از کلرید سدیم است و مطالعات کمی به بررسی اثر شوری ناشی از کلرید کلسیم بر رشد و فیزیولوژی گیاه پرداخته‌اند (۳۶). تأثیر کلرید کلسیم در گیاه بستگی به میزان غلظت به کار برده شده و گونه گیاهی دارد. مطالعاتی در زمینه اثرات بهبود دهنده کلسیم روی رشد گیاهان زراعی در محیط‌های شور ناشی از کلرید سدیم انجام شده از جمله در گندم با

گیاه شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens*) گیاهی چند ساله از تیره Geraniaceae است. اسانس این گیاه دارای بوی خوش شبیه بوی رز است که به‌طور وسیعی در صنایع عطرسازی، آرایشی و بهداشتی، غذایی و داروسازی استفاده می‌شود (۲۶). تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. شوری در اکثر زمین‌های

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

۲- دانشیار علوم باغبانی گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

(*) نویسنده مسئول: (Email: Rezaeinejad.Hossein@gmail.com)

۳- استادیار خاک شناسی گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

خیار (۴۳)، ذرت (۲۰) و گوجه‌فرنگی (۲۸). هدف از پژوهش حاضر مطالعه تأثیر کاربرد سیلیسیم بر شمع‌دانی معطر در شرایط افزایش هدایت الکتریکی محلول غذایی ناشی از کلرید کلسیم بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی گیاه شمع‌دانی معطر در طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۳ در گلخانه‌ی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان با میانگین دمای روزانه گلخانه ۲۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰-۶۰ درصد و نور ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه انجام گرفت. در این پژوهش ابتدا گیاه مورد نظر از طریق قلمه از گیاه مادری تکثیر پس از تهیه قلمه‌ها برای ریشه‌دار شدن آنها از هورمون اکسین استفاده شد که پس از چهار هفته که قلمه‌ها ریشه‌دار شدند در ماسه کشت شده و تا استقرار کامل که حدود ۳ هفته از زمان انتقال قلمه‌ها طول کشید با محلول هوگلند دو بار در روز (صبح و عصر) تغذیه شدند. پس از استقرار کامل گیاهان، تیمار کلرید کلسیم با حل کردن نمک کلرید کلسیم در محلول غذایی اعمال گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. تیمار کلرید کلسیم در سه سطح شامل هدایت الکتریکی ۱/۸ (مربوط به محلول غذایی شاهد، بدون تنش)، ۴ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب حاصل حل کردن ۱/۴۱ و ۳/۴۵ گرم بر لیتر نمک کلرید کلسیم در محلول غذایی بود و دوبار در روز به میزان ۲۰۰ میلی‌لیتر در گلدان اعمال شد. به خاطر جلوگیری از تجمع نمک در گلدان هر هفته یک بار بستر کاشت با آب شهری شستشو شد. تیمار سیلیسیم به صورت سیلیسیک اسید در سه سطح صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار با حل کردن صفر، ۰/۰۴۸ و ۰/۰۹۶ گرم در لیتر سیلیسیک اسید در محلول غذایی هوگلند به صورت هفتگی اعمال شد با توجه به اینکه این ماده باعث کاهش pH محلول هوگلند شد pH محلول نهایی در همه سطوح با استفاده از اسید کلریدریک بر روی ۵/۸ تنظیم شد. میانگین دمایی گلخانه ۲۷ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت نسبی ۵۸ درصد بود. پس از استقرار کامل گیاهان تیمارها به مدت ۱۲ هفته اعمال شد.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ طبق روش یاماساکی و دیلنبرگ (۴۰) انجام و غلظت مالون دی‌آلدئید طبق روش باگ و آست (۴) اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیختن تالر (۱۶) و استخراج پروپیلین به روش بیتس و همکاران (۳) با استفاده از بافت تر برگ و معرف ناین هیدرین اسید با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر^۱ مدل SHIMADZU, model UV-1700 Japan انجام شد.

استخراج آنزیم کاتالاز^۲ طبق روش چنس و مهلی (۵) انجام شد.

غلظت ۵ میلی‌مولار (۱۰)، طالبی با غلظت ۳/۵ میلی‌مولار (۴۱) باعث کنترل شوری شده است. در پژوهشی که در سال ۱۳۹۲ بر روی اسفناج انجام شد شوری کلرید کلسیم در مقایسه با کلرید سدیم درصد جوانه‌زنی و نیز وزن خشک اندام هوایی را بیشتر کاهش داد (۲۴).

شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی، آناتومیکی، ترکیبات شیمیایی و میزان آب بافت گیاه موثر است. به‌طور کلی تنش شوری در گیاهان موجب تنش خشکی و تنش سمیت یونی می‌گردد. یعنی شوری خود ترکیبی از دو تنش اسمزی و یونی می‌باشد به‌علاوه، این دو تنش، موجب ایجاد تنش ثانویه‌ای به نام تنش اکسیداتیو می‌گردند (۲۵). شوری بسیاری از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شامل پتانسیل آب و اسمزی برگ، میزان تعرق، دمای برگ و محتوای نسبی آب برگ را تغییر می‌دهد (۴۲). یکی از راهکارهای کاهش اثرات زیانبار تنش شوری استفاده از روش‌های تغذیه معدنی از جمله تغذیه با سیلیسیم می‌باشد. گیاهان سیلیسیم را به فرم سیلیسیک اسید جذب می‌کنند که غلظت آن در خاک از ۰/۱ تا ۰/۶ میلی‌مولار (۲/۸ تا ۱۶/۹ میلی‌گرم بر لیتر سیلیسیم) می‌باشد (۷). مطالعات متعدد نشان داده است که این عنصر اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد گیاه دارد (۱۷). سیلیسیم می‌تواند به دو روش بر وضعیت تغذیه‌ای گیاه تأثیر بگذارد. نخست این که سبب تقویت ویژگی‌های محافظتی گیاه در برابر آفات، بیماری‌ها و شرایط نامطلوب جوی شده و دیگر آن که از راه بهبود وضعیت آب و خواص فیزیکی و شیمیایی خاک و گیاه و حفظ عناصر در شکل قابل استفاده به‌وسیله گیاه، سبب ارتقای حاصلخیزی خاک گردد. سیلیسیک اسید فرمی از سیلیسیم است که به‌وسیله ریشه گیاهان جذب می‌شود. پس از جذب از طریق جریان تعرق به شاخساره‌ها و برگ‌ها می‌رود. در نتیجه از دست دادن آب سیلیسیم تبدیل به سیلیکاتل شده و باعث ایجاد دو لایه کوتیکول-سیلیسیم بر روی سطح برگ‌ها و ساقه‌ها می‌شود (۱۳). در پژوهشی که بر روی توت‌فرنگی در شرایط تنش شوری انجام شد سیلیسیم با افزایش استحکام دیواره سلول‌های اپیدرمی باعث جلوگیری از تعرق کوتیکولی شده و این امر باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های خشکی و شوری شد (۳۴). در پژوهشی که بر روی تأثیر سیلیسیم بر مقاومت به شوری گوجه‌فرنگی گیلاسی انجام شد سیلیسیم با محافظت از فعالیت فتوسنتزی تأثیر بهبود دهنده‌ای در برابر تأثیرات مخرب شوری در این گیاه داشت (۹). در پژوهشی که بر روی تأثیر سیلیسیم در مقاومت به شوری کدوی زوجینی در کشت هیدروپونیک انجام شد سیلیسیم یک میلی‌مولار رشد رویشی، عملکرد میوه، وزن تر و خشک همه بخش‌های گیاه و فتوسنتز کل گیاه را افزایش و تأثیر مخرب شوری را از بین برد (۳۲). سیلیسیم به‌وسیله افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کلروفیل، سطح برگ، فتوسنتز، رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش از بافت‌های گیاه محافظت می‌کند (۱۴). برخی مطالعات نشان داده‌اند که سیلیسیم در حذف شوری در گونه‌های مختلفی موثر بوده مانند

1- Spectrophotometer

2- Catalase

بر رشد و ویژگی‌های آناتومیکی و فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شمعدانی معطر موثر بود، به طوری که با افزایش میزان شوری، کاهش معنی داری در ویژگی‌های رشدی به ویژه تعداد و سطح برگ مشاهده شد و کاربرد سیلیسیک اسید، این اثرات منفی را بهبود بخشید (جدول ۱).

یکی از اثرات اولیه شوری، کاهش مقدار آب بافت‌های گیاهی می‌باشد. به عبارت دیگر، شوری میزان انرژی لازم برای حفظ حالت طبیعی سلول را افزایش داده و در نتیجه انرژی کمتری برای نیازهای رشدی باقی می‌ماند (۲۷). در تنش شوری اولین واکنش گیاه، کاهش توسعه برگ‌ها می‌باشد. کاهش توسعه برگ در معرض اثرات اسمزی ناشی از شوری قرار می‌گیرد. هنگامی که تنش اسمزی شوری، پتانسیل تورژسانس را کاهش می‌دهد نه تنها رشد و توسعه کاهش می‌یابد، بلکه پتانسیل تورژسانس نیز تا مقدار آستانه عملکرد کاهش می‌یابد. در شروع تنش اسمزی، جلوگیری از رشد سلولی به کاهش توسعه برگ‌ها منجر می‌شود. کاهش سطح برگ باعث کاهش تعرق و در نتیجه کاهش جذب آب گیاه می‌شود.

وجود سیلیسیم در محلول غذایی و در شرایط شوری، تعداد و سطح برگ را به طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۱). سیلیسیم با افزایش کارایی مصرف آب و بهبود محتوای رطوبت نسبی برگ در شرایط شوری و افزایش استحکام دیواره‌های سلولی و کاهش نشت الکترولیت‌ها، باعث افزایش فشار تورژسانس و افزایش اندازه برگ می‌شود. فتوسنتز گیاه نیز، با حضور سیلیسیم افزایش می‌یابد که منجر به افزایش تعداد برگ و افزایش سطح برگ گیاه می‌شود (۲۱).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح بالای تیمار کلریدکلسیم سبب کاهش محتوای نسبی آب شد و استفاده از سیلیسیم در مقایسه با گیاهان شاهد سبب افزایش محتوای نسبی آب شد (جدول ۱) و تأثیر سیلیسیم یک میلی‌مولار بیشتر از ۰/۵ میلی‌مولار بود (شکل ۱). افزودن سیلیسیم به محلول غذایی، با بهبود وضعیت آبی گیاه، محتوای رطوبت نسبی برگ را افزایش می‌دهد (۱۴). یکی از دلایل افزایش در محتوای نسبی آب در اثر اعمال سیلیسیم در شرایط تنش شوری افزایش استحکام بافت برگی می‌باشد. در بافت‌های گیاهی، سیلیسیم به فرم سیلیکا در آپوپلاست دیواره سلولی رسوب کرده و باعث استحکام بافت می‌گردد (۳۰). سیلیسیم در دیواره‌های سلول‌ها رسوب کرده و با ماکروملکول‌های آلی (شامل سلولز، پکتین، گلیکوپروتئین‌ها و لیگنین) ترکیب شده و ترکیبات کلوئیدی بی‌شکل را با سطح جذب بالا تشکیل می‌دهد. مقدار یک گرم از ذرات سیلیسیم با قطر ۷ نانومتر دارای سطح جذبی معادل ۴۰۰ متر مربع است. در نتیجه نانو ذرات سیلیسیم بر خصوصیت مرطوب بودن لوله‌های آوند چوبی و میزان انتقال آب اثر گذار بوده و کارایی مصرف آب را افزایش می‌دهد (۳۹).

برای استخراج آنزیم نمونه‌های برگ از بافر فسفات پتاسیم حاوی EDTA و PVP استفاده شد و سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه قرار داده سانتریفوژ گردید. جذب روشناور نمونه با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت، مقدار فعالیت آنزیم برحسب میزان آب اکسیژنه غیرفعال شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

برای استخراج آنزیم پراکسیداز^۱ از روش مک‌آدام و همکاران (۱۸) استفاده شد. برای استخراج آنزیم نمونه‌های برگ از بافر فسفات استفاده شد و سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ گردید. جذب روشناور نمونه با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۷۵ نانومتر قرائت گردید. در نهایت، مقدار فعالیت آنزیم برحسب میزان آب اکسیژنه غیرفعال شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

برای مطالعات میکروسکوپی اپیدرم و روزنه، توسط اسکالپل قطعاتی از اپیدرم یک لایه برگ جدا شده و بر روی لام قرار گرفت. ابتدا توسط میکروسکوپ نوری (Olympus) مجهز به دوربین عکاسی از نمونه‌های اپیدرم تهیه و سپس توسط نرم افزار (Image Tool) صفات ریختی روزنه شامل طول و پهنای روزنه بر حسب میکرون اندازه‌گیری شد. برای محاسبه شاخص روزنه از فرمول زیر استفاده گردید:

$$SI = [(S/E+S)] * 100 \quad (2)$$

E تعداد سلول‌های اپیدرمی در واحد سطح برگ (میلی متر مربع)، S تعداد روزنه در واحد سطح (میلی متر مربع) و SI شاخص روزنه بررسی فرا ساختار برگ با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

قطعاتی از برگ خشک گیاه شمعدانی معطر به کمک چسب مخصوص به پایه کوچک فلزی چسبانده شدند و با استفاده از روش PVP نشانندن طلا روی آنها انجام شد. مشاهده و عکسبرداری با میکروسکوپ الکترونی sem مدل tescan amira3لمو ساخت جمهوری چک صورت گرفت.

برای تجزیه آماری از نرم‌افزارهای SAS و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام و نمودارها با نرم افزار Prism 5 رسم گردید.

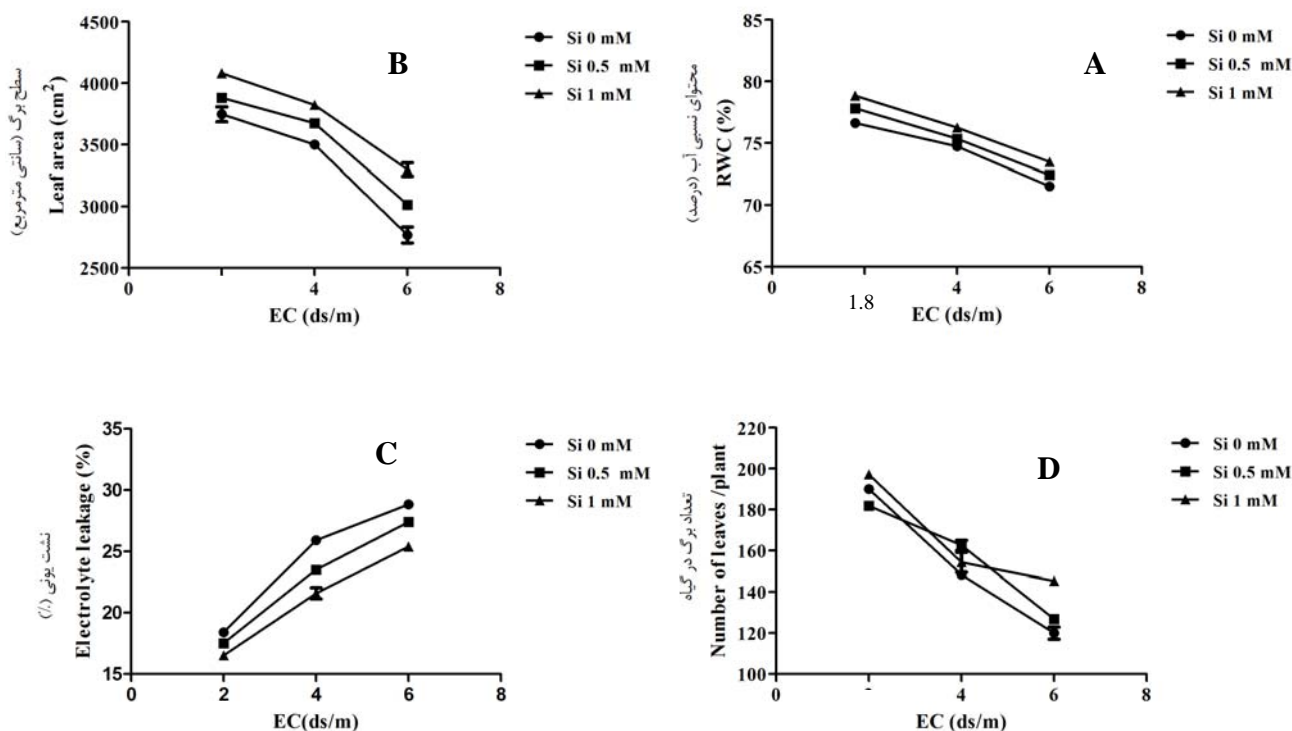
نتایج و بحث

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، تنش شوری ناشی از کلریدکلسیم

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سیلیسیم بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی شمعدانی معطر تحت تنش شوری کلریدکلسیم
Table 1- of the effects of Si on physiological characteristics of geranium under salinity stress of CaCl₂

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS			
		تعداد برگ Number of leaf	سطح برگ Leaf area	نشست الکترولیت Electrolyte leakage	محتوای نسبی آب Relative water content
هدایت الکتریکی EC	2	13152.62**	4965071.28**	364.34**	104.73**
سیلیسیم Silicic acid	2	644.28**	1897701.13**	38.90**	13.49**
Silicic acid × EC	4	385.55**	2127430.25**	2.04**	0.18**
اشتباه آزمایشی Error	36	29.97	34820	0.30	0.049
ضریب تغییرات Coefficient of variance		3.45	5.52	2.43	0.29

**معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد
significant at 1% probability level.



شکل ۱- مقایسه میانگین محتوای نسبی آب (A)، سطح برگ (B)، نشست الکترولیت (C) و تعداد برگ (D) در شمعدانی معطر تحت تأثیر شوری (EC) و سیلیسیم

Figure 1- Mean comparison of relative water content (A), leaf area (B), electrolyte leakage (C) and leaf number (D) of geranium under salt (EC) and Si.

گسترش شیب مورد نیاز جهت تأمین آب از خاک خشک، به تعلق کمتری نیاز دارد. بنابراین این ماده با کاهش هدر رفت آب و افزایش راندمان فتوسنتزی باعث افزایش وزن خشک و در نتیجه افزایش عملکرد می‌گردد. کاهش آب به صورت ساده موجب تقلیل پتانسیل

زمانی که دیواره سلولی سخت‌تر می‌شود، در اثر دهیدراسیون برگ، کاهش بیشتری در پتانسیل آب اتفاق می‌افتد، پس در محتوای نسبی آب مورد نظر شیب پتانسیل آبی از برگ تا خاک در تیمار سیلیسیم در مقایسه با تیمار شاهد منفی‌تر است، در نتیجه در این حالت گیاه برای

تورژسانس در نتیجه کاهش محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌شود.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سیلیسیم بر ویژگی‌های بیوشیمیایی شمعدانی معطر تحت تنش شوری کلرید کلسیم
Table 2- ANOVA of the effects of Si on biochemical characteristics of geranium under salinity stress of CaCl₂

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS							
		کلروفیل a Chla	کلروفیل b Chlb	کلروفیل کل Total Chl	کاروتنوئید Carotenoids	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	مالون‌دی‌آلدئید MDA	پرولین Proline
هدایت الکتریکی EC	2	35.18**	5.02**	64.60**	7.03**	17.28**	0.159**	7.79**	2.571**
سیلیسیم Silicic acid	2	6.46**	0.32**	9.47**	1.46**	9.45**	0.149**	8.87**	0.01 ^{ns}
Silicic acid × EC	4	0.77**	0.44**	1.86**	0.024 ^{ns}	0.22**	0.0004 ^{ns}	1.21**	1.75**
اشتباه آزمایشی Error	36	0.08	0.083	0.15	0.013	0.023	0.634	0.049	0.033
ضریب تغییرات Coefficient of variance		3.83	8.34	3.61	4.95	6.04	3.65	4.51	5.61

ns, **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

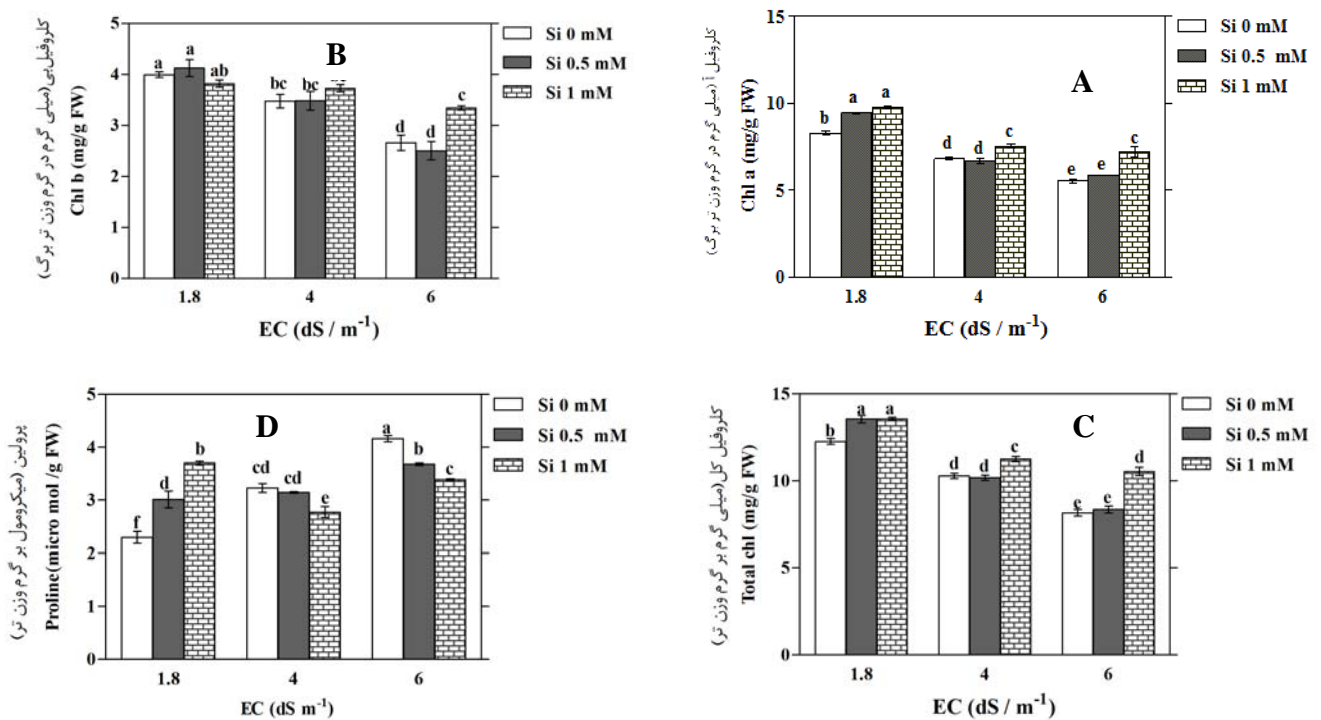
ns, **: non-significant and significant at 1% probability level.

تیمار شده با سیلیسیم نشان‌دهنده تقویت مکانیسم‌های مقاومتی (احتمالاً ترشح اسیدهای آلی) در این گیاه است. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح تیمار ناشی از کلرید کلسیم سبب کاهش کلروفیل کل شد (جدول ۲). به طوری که میزان کلروفیل کل گیاهانی که در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس بر متر رشد کرده‌اند به ترتیب ۱۶/۲ و ۳۳/۴ درصد کاهش یافت. سیلیسیم یک میلی‌مولار در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش ۹/۴ و ۲۸/۹ درصدی این ویژگی شد. پایداری کلروفیل به عنوان شاخصی از مقاومت گیاه به تنش است. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری می‌تواند عمده‌تاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آن‌ها با رادیکال اکسیژن، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیل‌از و اختلالات هورمونی باشد (۳۳). علاوه بر این، تنش شوری در جذب برخی عناصر ضروری نظیر آهن و منیزیم اختلال ایجاد می‌کند که این عناصر در سنتز کلروفیل ضروری می‌باشند (۲۲). با توجه به داده‌های حاصل می‌توان چنین نتیجه گرفت که میزان خسارت وارده به کلروفیل b تحت تنش شوری بیشتر بوده است. اونس‌ل و همکاران (۲۳) بیان داشتند که مقدار زیادی از کلروفیل b موجود در کلروپلاست در کمپلکس‌های دریافت‌کننده نور در فتوسنتز II قرار دارد. نسبت کلروفیل b به a در این کمپلکس‌ها سه به یک است. در حالیکه این

شوری در این گیاه استحکام و عمل غشاء را تحت تأثیر قرار داده و باعث افزایش نفوذپذیری و پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید شد (جدول ۲) و کاربرد سیلیسیم باعث استحکام غشاء و کاهش نفوذپذیری و پراکسیداسیون لیپیدها شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید گیاهانی که در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس بر متر رشد کرده‌اند به ترتیب ۲۶/۲ و ۵۴/۹ درصد افزایش یافت. سیلیسیم یک میلی‌مولار در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب موجب کاهش ۲۳/۶ و ۳۵ درصدی میزان مالون‌دی‌آلدئید شد. سیلیسیم به فرم سیلیکا در آپوپلاست دیواره سلولی رسوب کرده و باعث استحکام بافت می‌گردد (۳۰). عنصر سیلیسیم همچنین سیستم تراکمی گیاه را برای مقابله با سمیت گونه‌های فعال اکسیژن^۱ ناشی از تنش بهبود می‌بخشد (۱۲). در پژوهشی وانگ و همکاران (۳۸) افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید را در اندام هوایی گیاهچه‌های یونجه تحت تنش شوری، گزارش کردند و اعلام کردند که بین کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و افزایش تحمل به شوری در یونجه همبستگی مستقیم وجود دارد. یکی از اثرات تجمع اکسیژن آزاد در سلول‌های گیاهی در شرایط تنش‌زا، پراکسیداسیون چربی‌هاست که با اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده همراه بوده و باعث تخریب غشاء و نشت الکترولیت‌ها خواهد شد (۱۵). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها در گیاهان

تنش شوری قرار گرفته، تأثیر سیلیسیم در افزایش کارایی فتوسیستم II بیان شده است (۲). افزایش رشد و عملکرد گیاه در حضور سیلیسیم از طریق بهبود توانایی مکانیکی ساقه و برگ‌ها در جذب نور و افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه می‌باشد (۳۱). سیلیسیم با تأثیر بر کلروفیل موجود در واحد سطح، توانایی گیاه برای استفاده مؤثرتر از نور را بالا می‌برد (۱).
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح تیمار کلریدکلسیم سبب افزایش میزان پرولین شد (شکل ۲).

نسبت در کل کلروپلاست یک به سه است. این محققین بیان می‌دارند که در شرایط تنش، کمپلکس‌های دریافت کننده نور بیشتر آسیب می‌بینند که باعث کاهش شدید کلروفیل b در کلروپلاست و افزایش نسبت a به b تحت تنش خواهد شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که سیلیسیم باعث کاهش خسارات ناشی از تنش گردیده و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در اثر تیمار سیلیسیم در مقایسه با تیمار شوری به طور معنی داری افزایش یافتند (شکل ۲). از جمله دلایل افزایش میزان کلروفیل در گیاه گوجه‌فرنگی که تحت



شکل ۲- مقایسه میانگین میزان کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و پرولین (D) در شمع‌دانی معطر تحت تأثیر شوری (EC) و سیلیسیم. نوارهای عمودی نشان دهنده‌ی خطای استاندارد می‌باشد. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نیستند.

Figure 2- Mean comparison of Chl a (A), Chl b (B), Total Chl (C) and proline (D) of geranium under salt (EC) and Si. Bars indicate SE. Mean with the same letter(s) (row-wise) are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

کلریدکلسیم در برگ‌ها مقدار پرولین افزایش پیدا کرده است که دلیل آن می‌تواند افزایش سنتز پرولین و یا کاهش تجزیه آن به منظور مقابله با تنش باشد.

یکی از مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش شوری بیوسنتز و تجمع مواد آلی با وزن ملکولی کم (پرولین) است، این مواد به عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی جهت حفاظت فعالیت آنزیم‌ها و ساختمان ماکرومولکول‌ها در سلول نیز مطرح شده‌اند. در شرایط تنش شوری میزان تولید پرولین برای ایجاد مقاومت در گیاه و شرکت در فرآیند

در همه غلظت‌های کلریدکلسیم، استفاده از سیلیسیک اسید در مقایسه با گیاهان شاهد سبب کاهش میزان پرولین شد و تأثیر سیلیسیم یک میلی‌مولار بیشتر از ۰/۵ میلی‌مولار بود (شکل ۲). در این پژوهش میزان پرولین گیاهانی که در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس برتر رشد کرده‌اند به ترتیب ۴۱ و ۸۱ درصد افزایش یافت. سیلیسیم یک میلی‌مولار در شوری چهار و شش دسی‌زیمنس برتر به ترتیب موجب کاهش ۸۱/۶ و ۱۴/۲ درصدی میزان پرولین گیاه شد. در این پژوهش، با افزایش سطوح تیمار

شوری شد (جدول ۳). همچنین ابعاد روزنه‌ها نیز کاهش یافت که این دو عامل منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای و اتلاف آب از گیاه می‌شود. میزان شاخص روزنه‌ای گیاهانی که در شوری چهار و شش دسی‌زیمنس برمتر رشد کرده‌اند به ترتیب ۱۷/۸ و ۲۲/۵ درصد کاهش یافت. سیلیسیم یک میلی‌مولار در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس برمتر به ترتیب موجب افزایش ۳/۳ و ۱۹/۶ درصدی میزان شاخص روزنه‌ای گیاه شد. روزنه‌های

تنظیم اسمزی افزایش می‌یابد (۳۷). در پژوهشی که بر روی گندم در شرایط تنش خشکی انجام شد سیلیسیم با بالا بردن محتوی تنظیم کننده‌های اسمزی (پروکلین و گلوسین بتائین) و حفظ تعادل آبی سلول از کاهش شدید محتوی نسبی آب برگ جلوگیری کرده و این امر سبب پایداری ساختار سلول در برابر تنش کم آبی شد (۳۵). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح تیمار کلرید کلسیم موجب کاهش معنی‌دار شاخص روزنه‌ای و تراکم روزنه ای شد و کاربرد سیلیسیم مانع از این کاهش در مقایسه با تیمار

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سیلیسیم بر ویژگی‌های روزنه‌ای شمعدانی معطر تحت تنش شوری کلرید کلسیم
Table 3- ANOVA of the effects of Si on Stomatal characteristics of geranium under salinity stress of CaCl₂

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Squares				
		تراکم روزنه‌ای Stomata density	شاخص روزنه‌ای Stomata index	طول روزنه Stomata length	عرض روزنه Stomata width	تعداد سلول‌های سطحی Number of epidermal cell
هدایت الکتریکی EC	2	1186.4**	122362.5**	11.87**	2.32**	81.125**
سیلیسیم Silicic acid	2	203.9**	19494.8**	6.16**	3.12**	75.705**
Silicic acid × EC	4	88.97**	8585.4**	1.33 ^{ns}	0.199 ^{ns}	83.69**
اشتباه آزمایشی Error	36	5.63	521.308	0.702	0.126	0.441
ضریب تغییرات Coefficient of variance		2.368	2.24	2.44	3.408	0.994

ns, **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.
ns, **: non-significant and significant at 1% probability level.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر سیلیسیم بر برخی ویژگی‌های روزنه‌ای و بیوشیمیایی شمعدانی معطر تحت تنش شوری ناشی از کلرید کلسیم

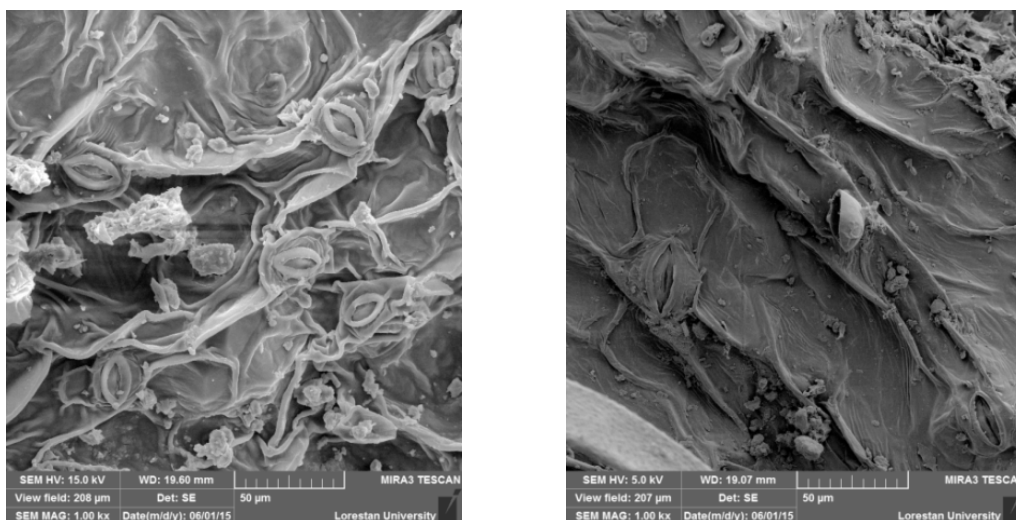
Table 4- Effects of Si on stomatal and biochemical characteristics of geranium under salt stress by CaCl₂

هدایت الکتریکی EC (ds/m)	سیلیسیم Si (mM)	تعداد سلول‌های اپیدرمی Number of epidermal cell	قطر روزنه Stomata diameter (micrometer)	عرض روزنه Stomata width (micrometer)	شاخص روزنه‌ای Stomata index	کاتالاز Catalase (Unit/g fw)	پراکسیداز Peroxidase (Unit/g fw)
1.8	0	64.76±3.69b	33.50±0.66b	9.54±0.21b	1154.51±a	2.19±0.042e	0.57±0.014c
	0.5	64.54±3.58ef	33.78±0.39b	5.59±0.36a	1134.68±a	1.29±0.046g	0.44±0.012d
	1	64.90±3.52c	32.86±0.32b	10.20±0.28a	1156.97±a	0.96±0.014h	0.36±0.005e
4	0	65.61±3.07e	34.45±0.42b	10.46±0.31d	948.66±c	3.32±0.04c	0.64±0.009b
	0.5	65.44±3.07e	35.28±0.93b	10.48±0.25bc	858.77±d	2.58±0.08d	0.54±0.003c
	1	65.87±3.32d	33.82±0.87b	10.64±0.58b	980.19±c	1.74±0.03f	0.45±0.005d
6	0	70.17±2.24f	34.48±1.25b	10.67±0.18cd	893.65±d	4.58±0.13a	0.76±0.01a
	0.5	69.78±2.11b	35.40±0.85a	10.96±0.25bc	949.0±c	3.67±0.07b	0.67±0.004b
	1	70.50±2.17a	35.10±1.06a	11.18±0.46a	1069.69±b	2.63±0.07d	0.56±0.009c

در هر ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند. هر عدد

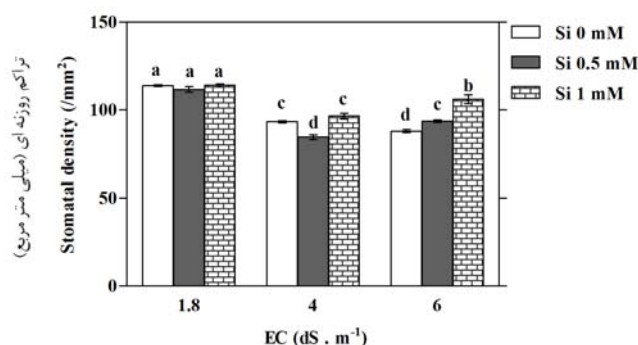
نشان‌دهنده‌ی میانگین پنج تکرار ± خطای استاندارد می‌باشد

Values followed with the same letter(s) (row-wise) are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncans multiple range test. Values are the mean of five replications ± S.E.



شکل ۳- سلول‌های روزنه در ریز نگاره الکترونی (SEM)، راست: گیاهان تیمار شده با شوری ۶ دسی زیمنس بر متر بدون سیلیسیم و چپ: گیاهان تیمار شده با شوری ۶ دسی زیمنس بر متر و ۱ میلی‌مولار سیلیسیم

Figure 3- Stomata cell in SEM. Right: plant treated with 6 ds/m EC without silicon and, Left plant treated with 6 ds/m EC and 1 mM silicon



شکل ۴- میزان تراکم روزنه‌ای در شمع‌دانی معطر تحت تأثیر شوری (EC) و سیلیسیم. نوارهای عمودی نشان دهنده‌ی خطای استاندارد می‌باشد. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیستند.
Figure 4- Stomata density of geranium under salt (EC) and Si. Bars indicate SE. Mean with the same letter(s) (row-wise) are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncan multiple range test.

که شوری دریافت نکرده‌اند نیز باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد. در این پژوهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهانی که در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس بر متر رشد کرده‌اند به ترتیب ۲۰ و ۹۹ درصد کاهش یافت. سیلیسیم یک میلی‌مولار در غلظت‌های چهار و شش دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب موجب افزایش ۹۰ و ۸۹ درصدی میزان این آنزیم شد. گزارش شده که تنش شوری باعث کاهش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در گوجه فرنگی شد، در حالیکه در تیمار سیلیسیم فعالیت این دو آنزیم افزایش پیدا می‌کند (۲). آنزیم کاتالاز قادر است بدون نیاز به عامل احیاء کننده، پراکسید هیدروژن موجود در سلول را به آب و اکسیژن تبدیل کند بنابراین با افزایش میزان کاتالاز به دلیل نقش آن در زدودن

هوایی برای واکنش مناسب، عوامل مختلف محیطی را حس کرده و قادر به تلفیق دقیق آنها با علائم درونی گیاه می‌باشند و تعداد روزنه‌ها در واحد سطح و اندازه آنها نقش بسیار مهمی در تبادلات گازی گیاه دارند (۱۱). در گوجه‌فرنگی شوری موجب کاهش تراکم روزنه‌ای شد (۲۹) که مطابق با یافته‌های این پژوهش است. حذف رادیکال‌های آزاد از دیگر واکنش‌های طبیعی گیاهان در شرایط تنش‌های اکسیداتیو است که در این تحقیق با تعیین میزان فعالیت ۲ آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز ارزیابی شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح تیمار کلرید کلسیم موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌ها شد و کاربرد سیلیسیم باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد (جدول ۲). کاربرد سیلیسیم در گیاهانی

فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز)، تنش شوری را در ذرت متعادل می سازد (۱۲).

نتیجه گیری کلی

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق، نشان دهندهی اثرات سودمند سیلیسیم در شرایط تنش شوری بود. اگر چه اثرات مفید سیلیسیم تحت شرایط مطلوب نیز محسوس بود ولی به نظر می رسد زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می گیرد، اثرات سودمند سیلیسیم چشمگیرتر است. از این دیدگاه مصرف سیلیسیم خصوصاً زمانی که گیاه در معرض انواع تنش های مختلف قرار گرفته شایسته توجه بیشتری است.

آب اکسیژنه از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی دی اکسید کربن نیز کمک می کند و کاتالاز علاوه بر اینکه پراکسید هیدروژن را از محیط حذف می کند کمبود اکسیژن حاصل از واکنش مهلر را نیز جبران می کند. بنابراین ارتباط بین تحمل به شوری در اثر اعمال سیلیسیم با فعالیت کاتالاز ممکن است علاوه بر نقش آنتی اکسیدانی آن، به نحوه عمل این آنزیم در کاهش تنفس نوری مرتبط باشد. در پژوهشی بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر تیمار سیلیسیم در نمونه های ذرت که در معرض تنش شوری قرار گرفته بود گزارش شد (۲۰). او اظهار داشت که اعمال سیلیسیم باعث افزایش میزان فعالیت این دو آنزیم در گیاهانی که در شرایط طبیعی رشد کرده و فاقد تنش می باشند نیز می گردد. سیلیکون با کاهش نفوذ پذیری غشای سلولی و حفاظت از ساختار سلولی، با افزایش

منابع

- 1- Adatia M.H., and Besford R.T. 1986. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. *Journal of Annual. Botany*, 58: 343-351.
- 2- Al-aghaby K., Zhujun Z., and Qinhuia S. 2004. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Jurnal of Plant Nutrition*, 27: 2101-2115.
- 3- Bates L.S., Waldron R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Journal of Plant Soil*, 39: 205-217.
- 4- Buege J.A., and Aust S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzyme*, 52: 302-310.
- 5- Chance B., and Maehly A. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2: 764-817.
- 6- Epstein E., and Rains D.W. 1987. Advances in salt tolerance. *Journal of Plant Soil*, 99: 17- 9.
- 7- Epstein E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceeding of the National Academy of Science*, 91:11-17.
- 8- Grattan S.R., and Grieve C.M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Journal of Scientia Horticulturae*, 78: 127-157.
- 9- Haghghi M., and Pessaraki M. 2013. Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientia Horticulturae*, 161: 111-117
- 10- Hawkins H.J., and Lewis O.A.M. 1993. Effect of NaCl salinity, nitrogen form, calcium and potassium concentration on nitrogen uptake and kinetics in *Triticum aestivum* L. cv. gamtoos, *Journal of New Phytologist*, 124, 171-177.
- 11- Hetherington A.M., and Woodward F.I. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental Change, *Nature*, 424: 901-908.
- 12- Helal-Ragab M. 2006. Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *Intl. Journal of Agriculture Biology*, 8(2): 293-297.
- 13- Kaerlek W.J. 2012. Effect of silicon on plant growth and drought stress tolerance. A thesis for the degree of Master of Science in plant science. Utah State University, 4-5.
- 14- Kaya C., Tuna L., and Higgs D. 2006. Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water stress condition. *Journal of Plant Nutrition*, 29:1469- 1480.
- 15- Liang Y. 1999. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Journal of Plant Soil*, 209: 217-224.
- 16- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio-membranes. In: *Method in Enzymol.* (eds.s.p.colowick and N.O.Kaplan) Academic press. NewYork, 48:350-382.
- 17- Ma J.F., and Takahashi, E. 2002. Soil Fertilizer and plant silicon research in japan. Elsevier. The Netherlands, 281p.
- 18- Mac-Adam J.W., Nelson C.J. and Sharp R.E. 1992. Peroxidase Activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Journal of Plant physiology*, 99:872-878.
- 19- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Limited, London Second edition, Pp 674.

- 20- Mussa H.R. 2006. Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agriculture and Biology Journal*, 2: 293-297.
- 21- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Journal of Plant Cell Environment*, 25: 239-250.
- 22- Neocleous D., and Vasilakakis M. 2007. Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. "Autumn Bliss"). *Journal of Scientia Horticulturae*, 112: 282-289.
- 23- Oncel I., Keles Y., and Ustun A.S. 2000. Interactive of temperature and heavy metal stress on the growth and some biological compounds in wheat seedling. *Journal of Environmental Pollution*, 107: 315-320.
- 24- Parnian P., Feizian M., Azizi KH., and Sohraabi A. 2013. The effect of salinity and drought on germination, quantitative character of spinach, and nutrition element in plant and some characters of soil. Theses of Master of Science. Faculty of agriculture Lorestan. (in Persian with English abstract)
- 25- Parida A.K. and Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- 26- Rajeswara Rao B.R. 2002. Biomass yield essential oil yield and essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium species*) as influenced by row spacing and intercropping with cornmint (*Mentha arvensis* L.f. *piperascens* Malinv. ex Holmes). *Journal of Industrial Crops and Products*, 16: 133-144.
- 27- Ritchie S.W., and Hanson A.D. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Journal of Crop Science*, 30:105-111.
- 28- Romero-Aranda M.R., Jurado O., and Cuartero J. 2006. Silicon alleviates the deleterious salt effects on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of Plant Physiol*, 163, 847-855.
- 29- Romero- Aranda R., Soria T., and Cuartero J. 2001. Tomato plant— water uptake and plant–water relationships under saline growth conditions. *Journal of Plant Science*, 160, 265-272.
- 30- Sang G.K., Ki W.K., Eun W.P., and Doil C. 2002. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: A possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Journal of Phytopathology*, 92: 1095-1103.
- 31- Samuels A.L., Glass A.D.M., Ehret D.L., and Menzies J.G. 1993. The effects of silicon supplementation on cucumber fruit: Changes in surface characteristics. *Journal. Annual. Botany*, 72: 433-440.
- 32- Savvas D., Giotis D., Chatzieustratiou E., Bakea M., and Patakioutas G. 2009. Silicon supply in soilless cultivations of zucchini alleviates stress induced by salinity and powdery mildew infections. *Journal of Environmental and Experimental Botany*, 65: 11-17.
- 33- Sultan A. 2005. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Journal of Environmental and Experimental Botany*, 42(3): 211-220.
- 34- Tabatabai S.J, Fatemy L.S., and Fallahi E. 2008. Effect of silicon on plant growth and yield of strawberry in salinity stress. *Journal of Horticulture science*. 23: 88-95.
- 35- Tala ahmad S., and Haddad R. 2010. Effect of silicon on antioxidant enzyme and osmotic regulator in 2 genotype of wheat in drought tolerance. *Journal of nahal and bazr*, 2-26(2); 207-225.(in Persian with English abstract)
- 36- Trajkova F., and Papadantonakis N. 2006. Comparative effects of NaCl and CaCl₂ salinity on cucumber grown in a closed hydroponic system. *Journal of Hortscience*, 41(2): 437-441.
- 37- Vendruscolo E.C.G., Schuster I., Pilegg M., Scapim C.A., Molinari H.B.C., Marur, C.J., and Vieira L.G.E. 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology*, 164(10): 1367-1376.
- 38- Wang W.B., Kim Y.H., Lee H.S., Kim K.Y., Deng X.P., and Kwak S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 570-577.
- 39- Wang, J. and Naser N. 1994. Improved performance of carbon paste amperometric biosensors through the incorporation of fumed silica. *Electroanalysis*, 6: 571-575.
- 40- Yamasaki S., and Dillenburg L.C. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal*, 11(2): 69-75.
- 41- Yermiyahu U., Nir S., Ben-Hayyim G., Kafkafi U., and Kinraide T.B. 1997. Root elongation in saline solution related to calcium binding to root cell plasma membranes, *Journal of Plant and Soil*, 191: 67-76.
- 42- Zhao G. Q., Ma B.L., and Ren C.Z. 2007. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. *Journal of Crop Science*, 47:123-131.
- 43- Zhu Z., Wei G., Li J., Qian Q., and Yu J. 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Plant Science*, 167: 527-533.